

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

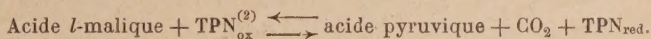
NÉCESSITÉ DE L'ION Mg POUR LA DÉCARBOXYLATION OXYDATIVE DE L'ACIDE MALIQUE ET LA CROISSANCE DE LA BACTÉRIE *MORAXELLA LWOFFI*

par ANDRÉ LWOFF et HÉLÈNE IONESCO (1).

(Institut Pasteur. Service de Physiologie microbienne.)

Le mutant S de *Moraxella lwoffii* diffère de la forme normale par la présence d'un enzyme responsable de la décarboxylation oxydative des acides *l*-malique et oxalo-acétique.

Ochoa, Mehler et Kornberg ont isolé récemment à partir du foie de pigeon, un enzyme catalysant, en présence d'ions Mn^{++} , la réaction réversible :



Il est possible (Ochoa, Mehler, Blanchard, Jukes, Hoffmann et Regan) que cet enzyme catalyse également la décarboxylation de l'acide oxalo-acétique. L'identité possible de l'enzyme des *Moraxelles* et de l'enzyme du foie, l'importance des ions Mg^{++} et Mn^{++} dans les décarboxylations, posaient la question du rôle des cations bivalents pour la décarboxylation bactérienne des diacides en C_4 .

Nous avons montré que l'ion K^+ (remplaçable par les ions Rb^+ et Cs^+) est nécessaire pour l'activité de la malicodécarboxylase. Le fonctionnement de l'enzyme dépend-il de la présence de cations bivalents?

(1) Avec la collaboration technique de Francine PAITIER.

(2) Triphosphopyridinonucléotide.

TECHNIQUES. — Les bactéries sont cultivées dans le milieu suivant : A. CO_3NaH , 3 g., eau bidistillée 100 ml. ; B. $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ 10 g., ClK 5 g., SO_4Mg 0,5 g., H_2O 100 ml. ; C. Citrate ferrique 0,1 g., H_2O 100 ml. ; D. PO_4KH_2 1 g., NaOH , *q. s.* pour pH 7,0, H_2O , *q. s.* pour 100 ml. ; E. Acide malique 5 g., NaOH , *q. s.* pour pH 7,0, H_2O , *q. s.* pour 100 ml. Les solutions sont stérilisées : A, B, C et D, vingt minutes à 115° , E par filtration sur bougie. On ajoute à 96 ml. de A, 1 ml. de B, 0,5 ml. de C, 0,35 ml. de D et 3,2 ml. de E. On fait barboter aseptiquement pendant six minutes dans le milieu un mélange de CO_2 /air à 8,5 p. 100. On ensemence avec 1 goutte d'une culture jeune diluée au centième. On refait barboter le mélange gazeux pendant trois minutes et l'on agite à 34° .

Dans ces conditions, le développement s'arrête faute de phosphore et les bactéries ne métabolisent que très lentement l'acide pyruvique. Il est donc facile de suivre la production de l'acide cétonique aux dépens de l'acide *l*-malique. La culture est centrifugée et mise en suspension dans une solution de ClK $0,5 \text{ M} \times 10^{-2}$. Une telle suspension de densité optique 500 sous 1 cm. à l'appareil de Meunier, additionnée de malate de sodium M/130 et agitée à 34° produit en trente minutes de 50 à 100 μg d'acide pyruvique par centimètre cube.

Ces résultats ont été obtenus avec des bactéries lavées une, deux ou trois fois par centrifugation et resuspendues dans de l'eau bidistillée, lavage éventuellement suivi d'une dialyse de la suspension bactérienne de vingt-quatre heures contre de l'eau bidistillée.

L'addition aux bactéries ainsi préparées de Cl_2Mn ou de SO_4Mg est parfois sans action. Dans quelques expériences, une augmentation de la production d'acide pyruvique a cependant été remarquée. Cette augmentation a été observée avec des bactéries lavées trois fois à l'eau bidistillée. Voici les résultats d'une expérience.

Dosage de l'acide pyruvique produit en trente minutes à 34° , en $\mu\text{g}/\text{ml.}$, en présence de ClK $3,3 \text{ M} \times 10^{-2}$.

0		59
SO_4Mg	$2 \text{ M} \times 10^{-3}$	67
SO_4Mg	$\text{M} \times 10^{-3}$	67
Cl_2Mg	$2 \text{ M} \times 10^{-3}$	66,5
Cl_2Mg	$\text{M} \times 10^{-3}$	66,5

Dans une autre expérience, les bactéries ont été centrifugées trois fois et dialysées vingt-quatre heures contre de l'eau bidistillée à $+3^\circ \text{C}$.

Voici les résultats obtenus (μg acide pyruvique/ml.) en présence de ClK $\text{M} \times 10^{-2}$:

0		66
Cl_2Mn	$\text{M} \times 10^{-4}$	75
Cl_2Mn	$2 \text{ M} \times 10^{-5}$	70

Pour faible qu'elle fût, cette augmentation permettait d'envi-

sager l'hypothèse d'une activité possible des ions Mg^{++} et Mn^{++} . Il s'agissait donc d'obtenir des bactéries carencées en magnésium et en manganèse. Nous avons eu recours à l'action de l'acide citrique.

Depuis que Sabbatani, en 1901, a compris que l'action anti-coagulante de l'acide citrique était due à la formation d'un complexe calcique, de nombreux auteurs ont mis en évidence l'existence de complexes non ionisables d'acide citrique avec des ions bivalents.

Nous avons donc examiné l'action de l'ion citrate sur la décarboxylation oxydative de l'acide malique.

Les suspensions bactériennes en CIK $0,5 M \times 10^{-2}$ ont été additionnées d'une solution $M \times 10^{-1}$ de citrate de sodium de pH 7,0. La concentration de citrate dans la suspension était, soit de $M \times 10^{-1}$, soit de $0,5 M \times 10^{-1}$. Après une heure de contact à la température du laboratoire ($12-15^\circ$), on ajoute le malate de Na M/130 et on agite trente minutes dans un bain-marie à 34° . On effectue ensuite le dosage de l'acide pyruvique par la méthode de Straub.

Les résultats sont exprimés en μg d'acide pyruvique/ml.

CITRATE $M \times 10^{-1}$	$SO_4 Mg$	$Cl_2 Mn$	μg acide pyruvique
0	0	0	62
+	0	0	2
+	$2 M \times 10^{-4}$	0	16
+	0	$2 M \times 10^{-4}$	9
+	$5 M \times 10^{-4}$	0	30
+	0	$5 M \times 10^{-4}$	18
+	$M \times 10^{-3}$	0	43.5
+	0	$M \times 10^{-3}$	27

On voit que le citrate $M \times 10^{-1}$ inhibe totalement la décarboxylation de l'acide malique. Mais si l'on ajoute, en même temps que le malate, des sels de Mg ou de Mn, l'action inhibitrice du

CITRATE $0,5 M \times 10^{-1}$	$SO_4 Mg$	$Cl_2 Mn$	μg acide pyruvique
0	0	0	55
+	0	0	14
+	$M \times 10^{-4}$	0	44
+	0	$M \times 10^{-4}$	22
+	$M \times 10^{-2}$	0	55
+	0	$M \times 10^{-3}$	55

citrate $M \times 10^{-1}$ est considérablement diminuée. En présence de citrate $0,5 M \times 10^{-1}$, SO_4Mg , $M \times 10^{-4}$ exerce une action antagoniste très nette vis-à-vis du citrate. A concentration $M \times 10^{-3}$, l'action inhibitrice du citrate est supprimée. Pour des concentrations équimoléculaires, l'activité débloquante du Cl_2Mn est inférieure d'environ 30 à 50 p. 100 à celle de SO_4Mg .

L'expérience suivante montre que l'activité des ions Ca^{++} , Sr^{++} et Ba^{++} est inférieure à celle des ions Mg^{++} .

	$M \times 10^{-3}$	CITRATE $M \times 10^{-1}$	CITRATE $0,5 M \times 10^{-1}$
SO_4Mg	—	43,5	75
$(NO_3)_2Ca$	—	16	34
Cl_2Sr	—	7,5	37
Cl_2Ba	—	7,5	43
0		2	18
Témoin sans citrate		62	100

Les sels de Cu^{++} , Ni^{++} et V^{++} aux concentrations indiquées n'ont pas montré d'action antagoniste vis-à-vis du citrate $0,5 M \times 10^{-1}$.

AJOUTÉ :		μg ACIDE PYRUVIQUE/ML
0		9,5
SO_4Mg	$M \times 10^{-3}$	86
SO_4Cu	$M \times 10^{-5}$	10
Cl_2Ni	$M \times 10^{-4}$; $M \times 10^{-5}$	9,5
SO_4V	$M \times 10^{-4}$; $M \times 10^{-5}$	10
Témoin sans citrate		85

Nous avons vérifié qu'aucun de ces sels aux concentrations étudiées n'avait exercé d'action inhibitrice sur la production d'acide pyruvique en l'absence de citrate.

Nous ajouterons que les bactéries traitées pendant une heure par le citrate de sodium $M \times 10^{-1}$, centrifugées et mises en suspension dans une solution de ClK $0,5 M \times 10^{-2}$, produisent de l'acide pyruvique comme les témoins non traités par le citrate. Le lavage suffit donc à supprimer l'effet du citrate.

Enfin, nous avons constaté qu'en présence de citrate de sodium $M/10$, la production d'acide oxalo-acétique aux dépens de l'acide malique n'était que faiblement inhibée, alors que dans la même préparation, la production d'acide pyruvique était nulle. Ceci montre, soit que le magnésium n'est pas indispensable pour

l'activité de la malico-déshydrogénase, soit que l'affinité du magnésium pour cet enzyme est plus élevée que pour la malico-décarboxylase.

DISCUSSION. — Il est certain que le citrate peut former des complexes avec les cations bivalents qui se trouvent éventuellement dans les solutions. Mais dans les conditions où nous avons opéré, le citrate agit certainement à l'intérieur des bactéries.

Le fait que les lavages à l'eau distillée ne suppriment pas l'activité enzymatique plaide en faveur de l'hypothèse que les cations Mg^{++} ou Mn^{++} sont présents dans les bactéries sous forme de complexes non diffusibles.

Le citrate pénétrant dans les bactéries déplacerait les cations de leurs combinaisons naturelles. Les complexes citriques ne doivent pas traverser la membrane bactérienne. On s'expliquerait mal autrement la réversion de l'inhibition citrique par le lavage qui éliminerait les ions Mg^{++} en même temps que le citrate.

On retiendra aussi que l'ion Mg^{++} peut diminuer considérablement ou supprimer l'action du citrate à des concentrations moléculaires cent à mille fois inférieures. Il n'agit donc pas en diminuant la concentration du citrate dans le milieu extérieur. Il est vraisemblable que quelques cations arrivent à pénétrer dans les bactéries. Le fait que l'enzyme sera ou non activé dépendra de la teneur des bactéries en enzymes et en citrate, de l'affinité relative de ce système pour le magnésium et de la concentration en ions Mg^{++} . Le problème de l'activation de l'enzyme par les ions Ca^{++} , Ba^{++} et Sr^{++} se pose tout naturellement. Ceux-ci n'agissent qu'à des concentrations supérieures aux concentrations actives de Mg^{++} . On peut se demander s'ils moléculaires cent à mille fois inférieures. Il n'agit donc pas en déplaçant, à l'intérieur des bactéries, le métal actif du complexe citrique. Aucune donnée expérimentale ne nous permet de discuter utilement ce problème.

NÉCESSITÉ DES IONS Mg POUR LA CROISSANCE DE « MORAXELLA ».

On sait depuis longtemps que l'ion citrate inhibe plus ou moins la croissance bactérienne. Récemment, Mc Leod et Snell ont observé l'inhibition par le citrate de Na de la croissance des *Lactobacillus*. Cette action inhibitrice a pu être supprimée par l'addition d'ions Mg^{++} et de Mn^{++} . L'hypothèse de Mc Leod et Snell est que le citrate forme les complexes avec les ions Mg^{++} et Mn^{++} , lesquels ne sont plus utilisables pour la croissance. Une action du citrate à l'intérieur des bactéries ne semble pas avoir été envisagée. Nous avons repris le problème de l'inhibition citrique avec la *Moraxella*.

Deux types d'expériences ont été réalisés :

- 1° Constatation du développement après ensemencement faible ;
- 2° Mesure de la vitesse de croissance.

TECHNIQUE. — On a utilisé un milieu synthétique dont la composition est la suivante : $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ 0,75 g. ; $\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 4,3 g. ; PO_4KH_2 0,6 g. ; KCl 0,5 g. On ajoute une solution de citrate de Na pour une concentration finale $0,5 \text{ M} \times 10^{-1}$ et on complète à 1.000 cm^3 avec de l'eau bidistillée. Le pH du milieu est à 7,2. Les traces de Mg présent à titre d'impuretés suffisent à assurer le développement en l'absence de citrate.

Le milieu réparti à raison de 5 cm^3 par tube est stérilisé vingt minutes à 120°.

Une solution de chlorure ferrique $\text{M} \times 10^{-2}$ et une solution de succinate de Na à 10 p. 100, ainsi que des solutions concentrées des divers sels à étudier sont stérilisées à part et ajoutées dans les tubes avant l'utilisation.

L'ensemencement est fait avec une goutte d'une culture jeune, en milieu synthétique, diluée à 1 p. 10.

Les tubes sont incubés à 34° dans un agitateur pour assurer une bonne oxygénation.

Le tableau I montre que le citrate $5 \text{ M} \times 10^{-2}$ a empêché tout développement visible pendant vingt-quatre heures. En présence

TABEAU I. — Influence des ions Mg^{++} et Mn^{++} sur le développement d'une culture inhibée par le citrate de Na $5 \times 10^{-2} \text{ M}$.

SO_4Mg (1)			Cl_2Mn (1)	DÉVELOPPEMENT (2)		
10 - 3	10 - 4	10 - 5	2×10^{-4}	9 heures	20 heures	24 heures
+				0	0	0
				+	+++	+++
	+			0	0	+
	+		+	+	+++	+++
		+	+	0	0	0
		+	+	0	+	++
			+	0	0	+

(1) Concentration moléculaire.
 (2) Culture : 0, non visible à l'œil nu ; +, très pauvre ; ++ moyenne ; +++ abondante.

de SO_4Mg $\text{M} \times 10^{-3}$, la culture était visible à l'œil nu après neuf heures. MnCl_2 $2 \text{ M} \times 10^{-4}$ renforce l'action de SO_4Mg . Ceci est particulièrement net en présence de SO_4Mg $\text{M} \times 10^{-4}$ et $\text{M} \times 10^{-5}$. MnCl_2 $2 \text{ M} \times 10^{-5}$ est dépourvu d'action. A une concentration $\text{M} \times 10^{-4}$, il a montré une faible activité.

Dans une autre expérience, nous avons constaté que $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$, Cl_2Sr et Cl_2Ba en présence de SO_4Mg $\text{M} \times 10^{-3}$ n'empêchait pas le développement. En absence de SO_4Mg et en présence de Cl_2Mn $\text{M} \times 10^{-4}$, ils sont, à une concentration $\text{M} \times 10^{-3}$, totalement dépourvus d'activité débloquante vis-à-vis du citrate.

Nous avons examiné aussi le rôle des ions Cu^{++} et Zn^{++} (tableau II). On voit que SO_4Zn et le SO_4Cu seuls se sont montrés dépourvus d'activité. Cu^{++} et Zn^{++} exercent cependant une action favorisante sur le développement des cultures additionnées

TABEAU II. — Influence de quelques cations sur le développement d'une culture inhibée par le citrate de sodium 5×10^{-2} M.

SO_4Mg (1)	Cl_2Mn (1)	SO_4Zn (1)	SO_4Cu (1)	DÉVELOPPEMENT (2)		
10 - 4	10 - 4	5×10^{-8}	5×10^{-9}	15 heures	18 heures	24 heures
				0	0	0
+				0	0	+
	+			0	0	+
		+		0	0	0
			+	0	0	0
+	+			+	+++	+++
+	+	+	+	+++	+++	+++
+		+	+	+	+++	+++
	+	+	+	+	+++	+++

(1) Concentrations moléculaires.
(2) Même notation que pour le tableau I.

de Mg^{++} , de Mn^{++} ou de Mg^{++} et Mn^{++} . Les résultats toutefois ne sont nets qu'après quinze ou dix-huit heures.

Mais l'étude du développement dans ces conditions donne des résultats d'une interprétation difficile, et parfois fort irréguliers.

Nous avons alors suivi la courbe de croissance d'une culture.

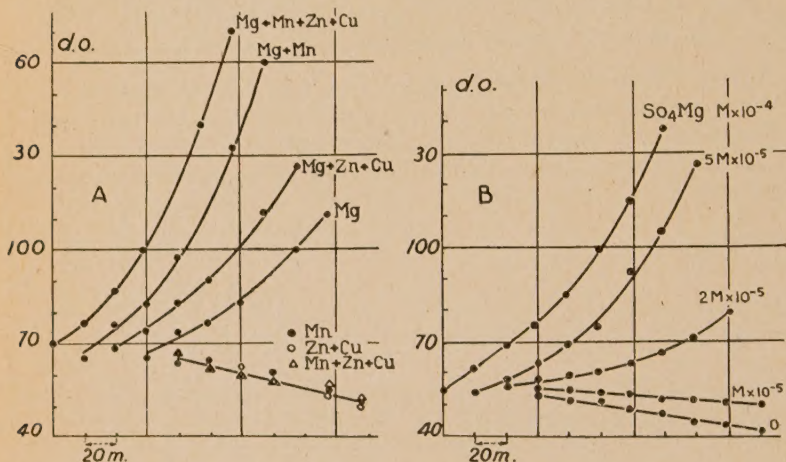
La suspension bactérienne est additionnée de citrate de Na et de différents sels dont on voulait étudier l'action. Les tubes sont agités à 34° et l'on suit la densité optique.

La fig. 1 A montre que SO_4Mg $\text{M} \times 10^{-5}$ ne supprime pas l'effet inhibiteur du citrate $2,5 \text{ M} \times 10^{-2}$. Pour une concentration de SO_4Mg $2 \text{ M} \times 10^{-5}$, il y a une croissance très lente, plus rapide pour une concentration $5 \text{ M} \times 10^{-5}$ et $\text{M} \times 10^{-4}$.

Dans une autre expérience (fig. 1 B), nous avons examiné l'action des ions Mg^{++} , Mn^{++} , Cu^{++} et Zn^{++} sur la croissance d'une culture inhibée par le citrate $2,5 \text{ M} \times 10^{-2}$. On voit que : Mn^{++} , $\text{Zn}^{++} + \text{Cu}^{++}$, $\text{Mn}^{++} + \text{Zn}^{++} + \text{Cu}^{++}$ ne permettent pas la croissance et que, par contre, Mg^{++} permet un développement. La vitesse de la croissance en présence de SO_4Mg $\text{M} \times 10^{-4}$

est légèrement augmentée par $\text{SO}_4\text{Zn } 5 \text{ M} \times 10^{-8} + \text{SO}_4\text{Cu } 5 \text{ M} \times 10^{-9}$. Elle est surtout augmentée par $\text{Cl}_2\text{Mn } 2 \text{ M} \times 10^{-4}$ ou par un mélange des cations Mn^{++} , Zn^{++} et Cu^{++} .

Il ressort de ces expériences que l'ion Mg^{++} est indispensable pour la croissance et l'ion Mn^{++} au moins fort utile. Le fait que $\text{Cl}_2\text{Mn } 2 \text{ M} \times 10^{-4}$ ne permet pas la croissance des bactéries inhibées par le citrate, que cette croissance est déclenchée par $\text{SO}_4\text{Mg } \text{M} \times 10^{-4}$, doit être mis en opposition avec l'activité comparable des ions Mg^{++} et Mn^{++} à ces concentrations sur la malico-décarboxylase inhibée par le citrate. Cette comparaison



Croissance de suspensions bactériennes en présence de citrate de sodium $2,5 \text{ M} \times 10^{-5}$. En abscisses : temps. En ordonnées : densité optique. A, expérience montrant la nécessité des ions Mg^{++} pour la croissance et l'action favorisante des ions Mn^{++} en présence de magnésium. B, expérience montrant l'action du sulfate de magnésium à diverses concentrations.

est en faveur de l'hypothèse d'une activité propre du manganèse dans la décarboxylation de l'acide malique. Si l'ion Mn^{++} agissait simplement en déplaçant l'ion Mg^{++} du complexe citrique à l'intérieur des bactéries, il devrait, semble-t-il, manifester une certaine activité dans les expériences de croissance.

L'ion Mn^{++} peut donc remplacer l'ion Mg^{++} pour la décarboxylation oxydative de l'acide malique, non pour la croissance de la bactérie.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1° L'ion citrate inhibe totalement ($\text{M} \times 10^{-1}$) ou partiellement ($0,5 \text{ M} \times 10^{-1}$) la décarboxylation oxydative de l'acide malique en acide pyruvique par *Moraxella lwoffii*.

2° L'addition d'ions Mg^{++} ou Mn^{++} $M \times 10^{-4}$ à $M \times 10^{-3}$ à des bactéries inhibées diminue ou supprime l'action du citrate.

3° L'inhibition citrique est supprimée également par le lavage des bactéries.

4° L'ion citrate agit vraisemblablement en formant un complexe avec les cations bivalents à l'intérieur des bactéries.

5° L'ion citrate $2,5 M \times 10^{-2}$ inhibe la croissance des *Moraxella*.

6° L'inhibition de la croissance est supprimée par l'ion Mg^{++} et non par l'ion Mn^{++} .

7° L'addition de Cl_2Mn à des bactéries inhibées par le citrate augmente le taux de croissance en présence de SO_4Mg .

BIBLIOGRAPHIE

- CANNAN (R. K.) et KBRICK (A.). *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, **60**, 2314-2320.
 HASTINGS (A. B.), LEAN (F. C. M.), EICHELBERGER (L.), HALL (J. H.) et DA COSTE (E.). *J. Bact.*, 1934, **107**, 351-370.
 JOSEPH (N. R.). *J. Biol. Chem.*, 1946, **164**, 529-541.
 LIPMAN (F.). *Symposia on Quant. Biol.*, 1939, **7**, 248-257.
 LWOFF (A.) et AUDUREAU (A.). *Ces Annales*, 1947, **73**, 517.
 LWOFF (A.), AUDUREAU (A.) et CAILLEAU (R.). *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 303-305.
 LWOFF (A.) et CAILLEAU (R.). *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 678-679.
 LWOFF (A.) et IONESCO (H.). *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **225**, 77-79 et 263-264.
 MAC LEOD (R. A.) et SNELL (E. E.). *J. Biol. Chem.*, 1947, **170**, 351-364.
 OCHOA (S.). *J. Biol. Chem.*, 1945 **159**, 243-244.
 OCHOA (S.), MEHLER (A.), BLANCHARD (M. L.), JUKES (T. H.), HOFFMANN (C. E.) et REGAN (M.). *J. Biol. Chem.*, 1947, **170**, 413-414.
 OCHOA (S.), MEHLER (A.) et KORNBERG (A.). *J. Biol. Chem.*, 1947, **167**, 871-872.
 SABBATANI (L.). *Arch. ital. Biol.*, 1901, **36**, 397.
 STARE (F. J.) et BAUMAN (C. A.). *Cold Spring Harbor Symposium*, 1939, **7**, 227.
 TABOR (H.) et HASTINGS (A. B.). *J. Bact.*, 1945, **148**, 627-632.

LE POTASSIUM ET LA DÉCARBOXYLATION BACTÉRIENNE OXYDATIVE DES ACIDES MALIQUE ET OXALO-ACÉTIQUE

par André LWOFF et Hélène IONESCO.

(Institut Pasteur. Service de Physiologie microbienne.)

Le mutant S de *Moraxella lwoffii* est capable d'effectuer une décarboxylation oxydative des acides *l*-malique et oxalo-acétique [5-6-7-8 c]. Nous avons exposé dans deux notes préliminaires

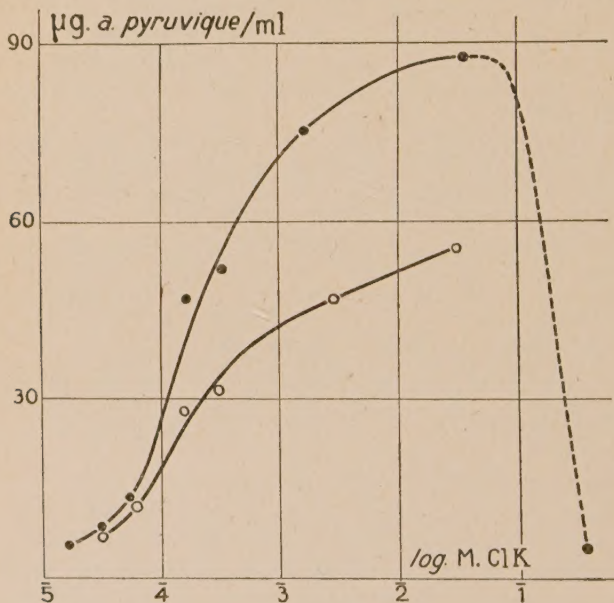


FIG. 1.

[8 a et b] que l'ion K^+ , remplaçable par les ions Rb^+ et Cs^+ était nécessaire à la décarboxylation de l'acide *l*-malique. Nous donnons aujourd'hui le détail de nos expériences, et montrons de plus : 1° que l'ion K^+ est nécessaire pour la décarboxylation de l'acide oxalo-acétique ; 2° que la déshydrogénation du malate en oxalo-acétate peut se poursuivre en l'absence de potassium.

TECHNIQUES. — a) Les bactéries carencées en phosphore sont préparées suivant la technique décrite antérieurement [8 d]. Elles sont centrifugées trois fois, le culot étant remis en suspension dans l'eau bidistillée, et éventuellement dialysées contre de l'eau bidistillée pendant dix-huit heures à + 3° C.

b) L'acide produit par les bactéries carencées en phosphore,

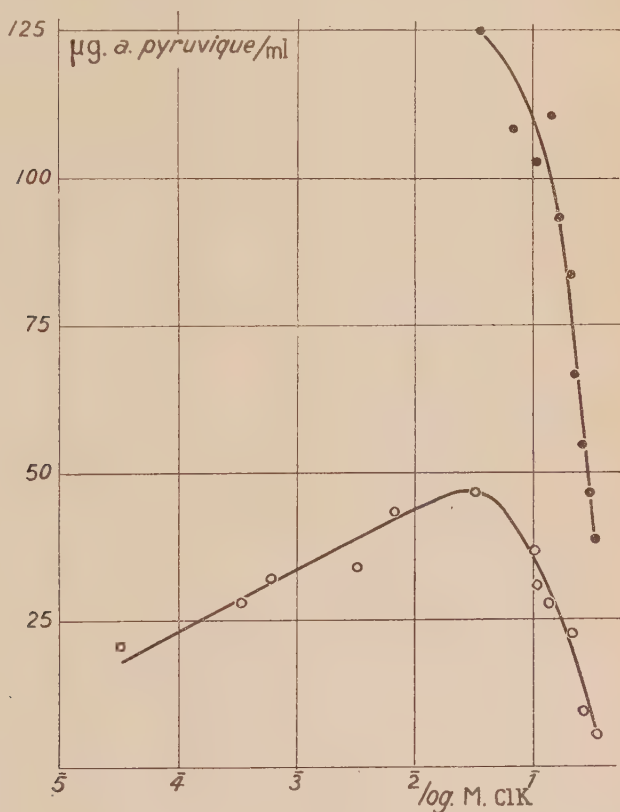


FIG. 2.

en présence de malate de sodium et de ClK, a été identifié par Michel Backès à l'acide pyruvique.

Point de fusion (non corrigé) de la dinitro-2-4-phényl-hydrazone :

De l'acide pyruvique.	217,5
De l'acide isolé.	215
Du mélange des deux acides	216,5

L'acide pyruvique et l'acide oxalo-acétique sont dosés par les méthodes de Straub [11].

ACTION QUANTITATIVE DU POTASSIUM.

Nous avons donné dans notre note préliminaire [8 a] une courbe montrant la production d'acide pyruvique en fonction de la concentration en ClK. Les figures 1 et 2 représentent d'autres expériences. Elles illustrent de façon claire la relation entre la quantité d'acide pyruvique produit et la concentration en potassium.

LE POTASSIUM EST NÉCESSAIRE
POUR LE MÉTABOLISME DE L'ACIDE OXALO-ACÉTIQUE.

L'acide oxalo-acétique étant attaqué par le même enzyme que l'acide *l*-malique, il convenait d'examiner le rôle éventuel du potassium pour sa décarboxylation.

Les bactéries préparées comme pour les expériences précé-

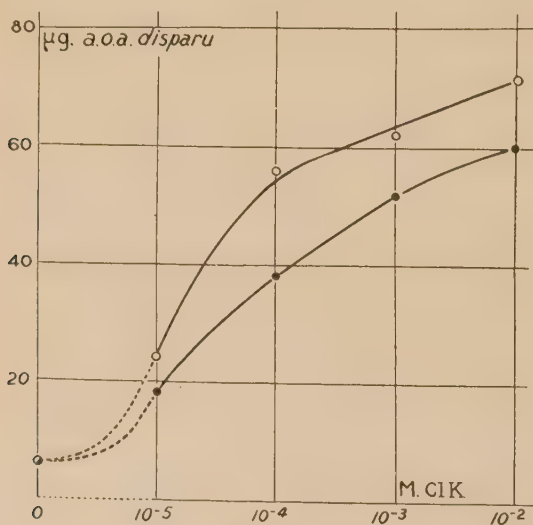


FIG. 3.

dentes sont mises en présence d'acide oxalo-acétique. La solution est préparée au dernier moment. L'acide oxalo-acétique est dosé par la méthode de Straub, au début et à la fin de l'expérience, dans un tube témoin non additionné de bactéries. Dans les conditions où nous avons opéré à 28°, la décarboxylation spontanée ne dépasse pas 5 p. 100.

L'examen de la fig. 3 montre que l'acide oxalo-acétique ne disparaît en quantité notable qu'en présence de ClK, et que la concentration en ions K⁺ contrôle la vitesse du processus.

REMPLACEMENT DU POTASSIUM
PAR LE RUBIDIUM ET LE CÉSIMUM.

Une courbe de l'activité du rubidium et du césium a été donnée précédemment [8 b]. Les courbes montrent que l'activité du rubidium pour des concentrations faibles est égale ou légèrement inférieure à celle du potassium. Par contre, pour les concentrations

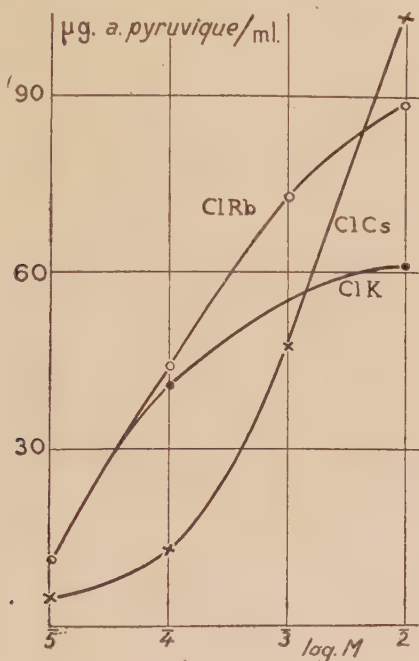


FIG. 4.

plus élevées, il se produit plus d'acide en présence de rubidium que de potassium. Ce phénomène est plus net avec le césium dont les concentrations limites inférieures actives sont notablement plus élevées que pour le potassium. Par contre, aux concentrations fortes, la quantité d'acide pyruvique produit en fonction du césium est nettement plus élevée qu'en présence de potassium ou de rubidium. Nous ajouterons que, pour ce qui concerne le rubidium, nous avons comparé le sel commercial (origine Rhône-Poulenc) avec un échantillon de ClRb purifié que nous devons à l'obligeance de M. Gabriel Bertrand. Le dosage spectrographique effectué par Didier Bertrand a montré que cet échantillon renfermait moins de 1 p. 10.000 de potassium. Ce pro-

duit purifié a donné des résultats identiques à ceux obtenus avec le produit commercial.

L'hypothèse que l'activité du rubidium pourrait être due à des traces de potassium est donc exclue. La différence présentée par les courbes du césium et du potassium permet également d'éli-

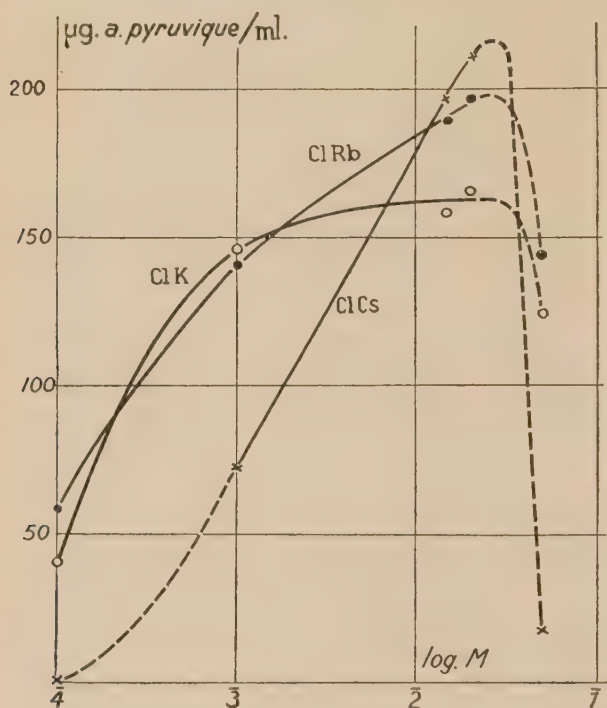


FIG. 5.

miner l'hypothèse que l'activité du césium pourrait être due à des traces de potassium ou de rubidium.

La concentration moléculaire en ions K^+ , Rb^+ et Cs^+ correspondant au cours des diverses expériences à la moitié de la vitesse de production maximum de l'acide pyruvique a été :

	$ClK \text{ M} \times 10^{-5}$	$ClRb \text{ M} \times 10^{-5}$	$ClCs \text{ M} \times 10^{-5}$
a. o. a. . .	1,4 — 3,6		
a. m. . . .	3,6 — 5 — 7,9 — 16		
a. m. . . .	20	28,2	200
a. m. . . .		7,9	79

On voit que les résultats sont assez variables. La production de l'acide pyruvique dépendant d'un ensemble assez complexe de facteurs, ceci n'a rien qui doive nous étonner.

SPÉCIFICITÉ DES IONS K^+ , Rb^+ et Cs^+ .

Les ions K^+ , Rb^+ et Cs^+ ne peuvent être remplacés par aucun des ions suivants : Na^+ , Sr^{++} , Mg^{++} , Mn^{++} , Ni^{++} ,

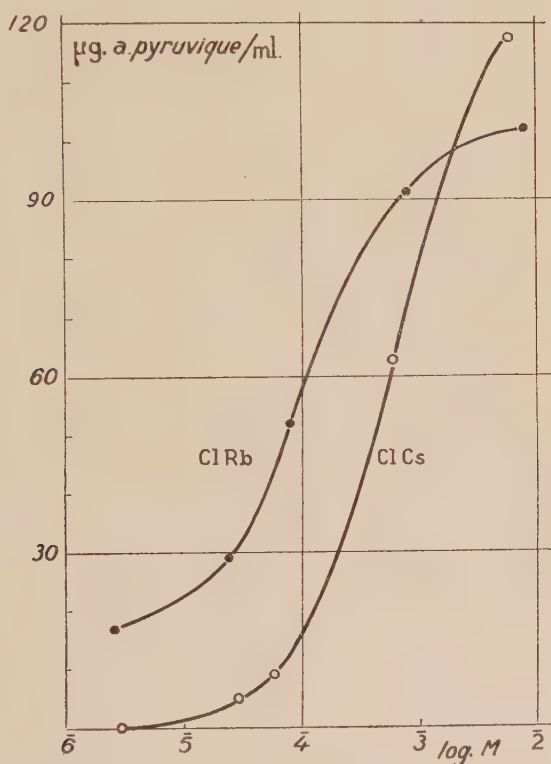


FIG. 6.

Co^{++} , Cu^{++} et Zn^{++} . Ces différents ions ont été étudiés à des concentrations diverses. Certains d'entre eux sont en effet doués d'une action inhibitrice.

1° Cl_2Sr , $ClNa$ et SO_4Mg . Ces composés ont été examinés à deux concentrations : $1,2 \cdot 10^{-3}$ et $1,7 \cdot 10^{-4}$ M. Il n'y a pas eu de production d'acide pyruvique. Nous avons vérifié qu'à ces concentrations, ces composés n'exerçaient aucune action inhibitrice sur la production de l'acide pyruvique en présence de ClK .

2° Cl_2Mn . Ce composé, à des concentrations de $8,5 \cdot 10^{-5}$ et $2 \cdot 10^{-4}$ M, s'est révélé incapable de remplacer le potassium. Il n'exerce pas d'action inhibitrice.

3° Il en est de même pour Cl_2Ni à une concentration de $1,7 \cdot 10^{-4}$ M. Le sulfate de cuivre et l'acétate de cobalt à une concentration $8,5 \cdot 10^{-5}$ M inhibent entièrement la production d'acide pyruvique en présence de ClK. A une concentration de $8,5 \cdot 10^{-6}$ M, ils sont incapables de remplacer le potassium.

4° L'acétate de zinc à $8,5 \cdot 10^{-5}$ M inhibe 100 p. 100 de la production d'acide pyruvique, et à $8,5 \cdot 10^{-6}$ M, 67 p. 100. A une concentration dix fois moins élevée, il est incapable de remplacer le potassium.

LE POTASSIUM N'EST PAS NÉCESSAIRE POUR L'ACTIVITÉ
DE LA MALICODÉSHYDROGÉNASE.

On pouvait se demander si le potassium n'agissait pas en permettant ou en favorisant la pénétration de l'acide malique dans

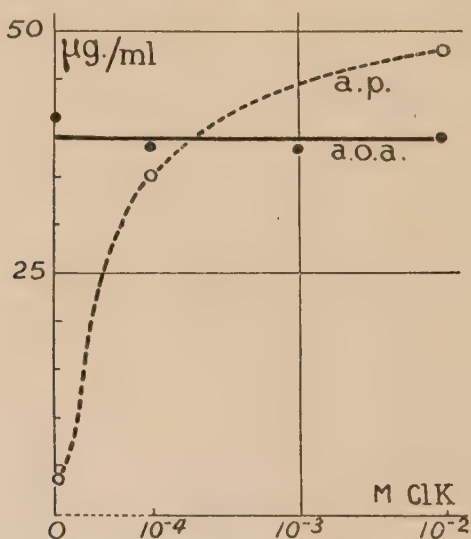


FIG. 7.

les bactéries. L'expérience suivante permet de répondre à cette question. On dose l'acide pyruvique et l'acide oxalo-acétique produit aux dépens de l'acide l-malique en fonction de la concentration en ClK.

On voit (fig. 7) que la quantité d'acide oxalo-acétique produit est la même en l'absence ou en présence de ClK alors qu'au

contraire, il n'y a production d'acide pyruvique qu'en présence d'ions K^+ .

Ceci veut dire que l'ion K^+ est nécessaire pour l'activité de la malicodécarboxylase et non pour celle de la malicodéshydrogénase.

Nous avons vérifié que le potassium n'est pas nécessaire non plus à l'activité de la lacticodéshydrogénase. Des bactéries S^+ sont cultivées dans un milieu pauvre en phosphore en présence d'acide lactique. Après 3 centrifugations, ces bactéries sont mises en présence de malate et de lactate de sodium et additionnées ou non de $ClK \text{ } M \times 10^{-2}$. L'acide pyruvique est dosé après trente minutes d'agitation à 36° .

Les chiffres représentent l'acide pyruvique en $\mu g/ml$.

	Ajouté :	0	ClK
Malate		0	27
Lactate		19	35

DISCUSSION.

On sait depuis Naegeli et Benecke que Rb^+ et Cs^+ peuvent remplacer K^+ pour le développement d'*Aspergillus*. Boissvain [1] et Rahn [10] ont également réussi avec de nombreux microorganismes à supplémenter par du rubidium des milieux déficients en potassium, le césium toutefois étant inactif. On sait aussi que Rb^+ et Cs^+ peuvent remplacer K^+ dans beaucoup de réactions relevant de la physiologie musculaire et nerveuse.

Mais, malgré l'importance considérable du potassium pour les êtres vivants, son rôle n'a été défini que dans un très petit nombre de cas. D'après Lardy et Ziegler [4], le potassium est nécessaire pour la phosphorylation de l'acide pyruvique. Buchanan, Hastings et Nesbett [2] ont montré que la formation du glycogène à partir d'acide pyruvique *in vitro* était fortement influencée par la présence de potassium à concentration relativement élevée. Szent-Györgyi et ses collaborateurs [12] ont mis en évidence la nécessité du potassium pour la contraction musculaire. Hermann [3] a établi l'existence d'une relation entre l'adsorption d'acide adénosine triphosphorique par la myosine, et la concentration en ClK . En fait, le potassium n'a été reconnu comme nécessaire que pour des réactions dans lesquelles intervient l'acide adénosine triphosphorique.

Il ne semble pas que, jusqu'ici, le rôle du potassium dans le métabolisme bactérien ait pu être rapporté à sa nécessité pour une activité enzymatique spécifique. L'étude de *Moraxella* montre que le potassium (remplaçable par le rubidium et le césium) est nécessaire pour la décarboxylation oxydative des acides *l*-malique et oxalo-acétique. Elle établit, de plus, l'existence d'une relation entre l'activité de la décarboxylase et la concentration en potassium.

Nous rappelons que la production d'acide pyruvique aux dépens de l'acide *l*-malique se fait en un seul temps. Il ne s'agit pas, en effet, d'une déshydrogénation en acide oxalo-acétique suivie d'une décarboxylation : nous avons montré que l'acide *l*-malique et l'acide malonique inhibent le métabolisme de l'acide oxalo-acétique. Il ne s'agit pas non plus d'une décarboxylation en acide lactique suivie d'une déshydrogénation. De nouvelles expériences dont nous donnerons le détail ultérieurement ont montré que des bactéries s'étant développées dans un milieu pauvre en phosphore en présence d'acide *l*-malique, accumulent de l'acide pyruvique en présence de l'acide malique et non en présence de l'acide lactique.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1° Le mutant S de *Moraxella lwoffii* cultivé dans un milieu pauvre en phosphore, en présence d'acide malique, accumule de l'acide pyruvique en présence d'acide *l*-malique.

2° Cette réaction, qui est une décarboxylation oxydative directe de l'acide *l*-malique, ne se produit qu'en présence de potassium qui peut être remplacé par le rubidium et le césium.

3° Le potassium est nécessaire également pour la décarboxylation oxydative de l'acide oxalo-acétique.

4° Les ions Na⁺, Sr⁺⁺, Mg⁺⁺, Mn⁺⁺, Ni⁺⁺, Cu⁺⁺, Co⁺⁺ et Zn⁺⁺ ne peuvent pas remplacer les ions K⁺, Rb⁺ et Cs⁺.

5° Le potassium, indispensable pour l'activité de la malicodécarboxylase, n'est pas nécessaire pour l'activité de la malicodéshydrogénase.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BOISSEVAIN. *J. Infect. Dis.*, 1928, **43**, 194.
- [2] BUCHANAN (J. M.), HASTINGS (A. B.) et NESBETT (F. B.). *J. Biol. Chem.* 1942, **145**, 715-716.
- [3] HERMAN (V. Sz.). *Hungarica Acta Physiologica*, 1946, **1**.
- [4] LARDY (H. A.) et ZIEGLER (J. A.). *J. Biol. Chem.*, 1945, **159**, 343-351.
- [5] LWOFF (A.) et AUDUREAU (A.). *Ces Annales*, 1947, **73**, 517.
- [6] LWOFF (A.), AUDUREAU (A.) et CAILLEAU (R.). *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 303-305.
- [7] LWOFF (A.) et CAILLEAU (R.). *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 678-679.
- [8] LWOFF (A.) et IONESCO (H.). a) *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 1664-1666 ; b) **225**, 77-79 ; c) **225**, 263-264 ; d) *Ces Annales*, 1948, **74**, 433.
- [9] MAC LEOD (R. A.) et SNELL (E. E.). *J. Biol. Chem.*, 1947, **170**, 351-364.
- [10] RAHN. *J. Bact.*, 1936, **32**, 393-399.
- [11] STRAUB. *Zeitschr. Physiol. Chem.*, 1936, **224**, 105.
- [12] SZENT-GYÖRGYI (A.). *Chemistry of muscular contraction. Academic Press Inc., Publ., New-York, N. Y.*, 1947.

OBTENTION D'UN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RÉSISTANT A LA PÉNICILLINE ET ÉTUDE DE SES CARACTÈRES

(PREMIER MÉMOIRE)

par Michel FAGUET (*).

(Institut Pasteur, Service du Bactériophage.)

Dans ce travail, nous avons cherché à obtenir un staphylocoque résistant à la pénicilline et nous avons étudié quelques-uns de ses caractères.

Certains auteurs, parmi lesquels H. W. Florey, E. Chain et leurs collaborateurs [1], Rammelkamp [2], ont déjà constaté que des staphylocoques cultivés en présence de pénicilline acquerraient la propriété de se développer en présence de quantités de pénicilline qui empêchaient normalement la souche ordinaire de se multiplier. Demerec [3] a étudié ce phénomène et a recherché les causes de cette résistance qu'il attribue principalement, non à l'action de la pénicilline sur les bactéries, mais au fait que cet antibiotique agit en éliminant les germes non résistants.

Le staphylocoque choisi est la souche Cheftel qui est l'une de celles utilisées au laboratoire de Chimiothérapie de l'Institut Pasteur [4]. Ce staphylocoque est cultivé dans un milieu constitué par une solution à 3 g. p. 100 de peptone (Uclaf), de 0,6 g. p. 100 de NaCl et de 3 p. 100 de glucose. Ce milieu était ajusté à plus 7,2 et la température des cultures était de 32° C.

L'adaptation [5] fut réalisée par cultures successives quotidiennes du staphylocoque en présence de quantités de pénicilline [6] variant de 0,05 unité dans 10 cm³ de milieu à 1 unité.

L'étude des souches adaptées fut faite par l'examen des courbes de croissance obtenues au moyen du microbiophotomètre enregistreur [6]. Cet appareil donne automatiquement les courbes de croissance de 6 cultures différentes en milieu liquide. La simple lecture de ces courbes nous permet de déterminer instantanément le *temps moyen de génération* [7] et les variations de la phase de latence. Cette technique permet de mettre en évidence l'action de

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 13 mai 1948.

0,004 unité Oxford par centimètre cube de milieu. Elle est plus sensible que celle adoptée par Demerec (seuil de sensibilité à 0,012 unité Oxford par centimètre cube). Dans toutes ces recherches exécutées au microbiophotomètre, chaque courbe correspond à une culture faite en milieu liquide dont la composition est donnée plus haut et dont le volume est de 20 cm³. Tous les ensemencements ont été faits au moyen de pipettes calibrées à 1,4 mm. de diamètre extérieur et comportaient 11 gouttes d'une suspension bactérienne en eau bi-distillée de 1 milliard de germes environ, au centimètre cube. Ces suspensions ont été obtenues à partir de cultures sur gélose de sept heures.

a) SOUCHE ADAPTÉE PAR 10 PASSAGES QUOTIDIENS
SUR MILIEU A LA PÉNICILLINE.

Nous avons étudié le comportement des souches adaptées en présence de quantités variées de pénicilline.

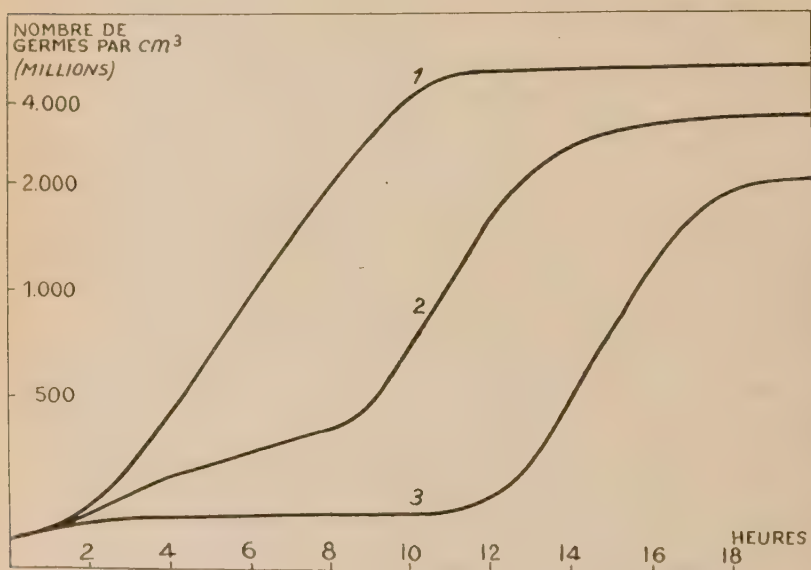


FIG. 1.

Nous décrivons l'une des expériences qui résumera toutes celles que nous avons faites dans ces conditions.

La souche avait été adaptée par 10 passages quotidiens sur milieu à la pénicilline. La fig. 1 nous montre les résultats obtenus :

La courbe 1 représente la culture de Staphylocoque Cheftel non adaptée. La courbe 2 représente la croissance du même germe

adapté (par 10 cultures successives sur milieu à la pénicilline) en présence de 0,15 unités de pénicilline pour 20 cm³ de milieu. La courbe 3 représente la multiplication de Staphylocoque Cheftel ordinaire en présence de la même quantité de pénicilline. L'examen de ces courbes nous a permis de faire les constatations suivantes :

1° La courbe de croissance du staphylocoque adapté présente un aspect à peu près constant : une partie sensiblement

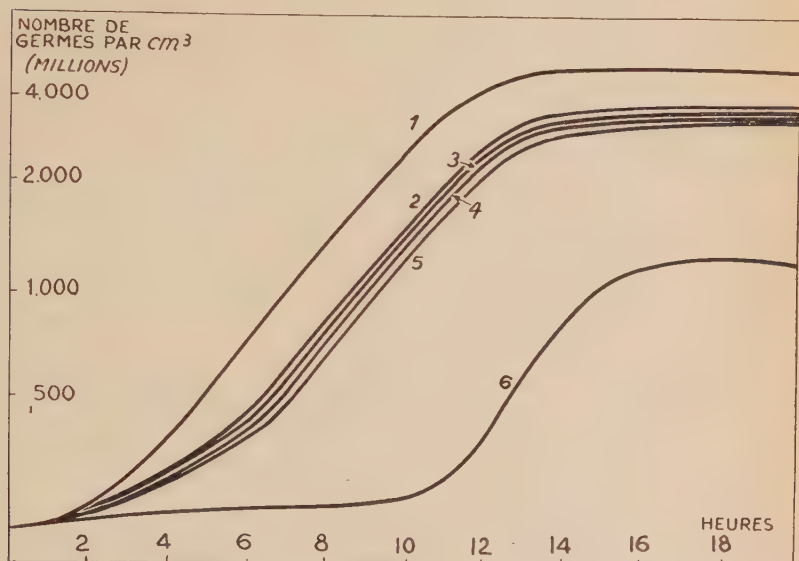


FIG. 2.

linéaire, suivant immédiatement la phase de latence, se raccordant à une branche d'allure exponentielle ;

2° La quantité de germes, au moment du maximum de culture, est beaucoup plus grande dans les cultures adaptées que dans les cultures non adaptées additionnées de pénicilline. Le maximum des cultures adaptées est lui-même inférieur au maximum des cultures normales.

b) COMPORTEMENT DE L'ADAPTATION DE LA SOUCHE ADAPTÉE AU COURS DE REPIQUAGES SUCCESSIFS SUR MILIEUX SANS PÉNICILLINE.

Dans une autre série d'expériences, nous avons cherché à savoir ce que devenait l'adaptation obtenue en cultivant sur gélose ordinaire la souche adaptée. Nous désirions voir si l'adaptation se conservait ou si les cultures reprenaient leurs caractères pri-

mitifs. Nous avons déterminé quotidiennement les courbes de croissance des souches obtenues par repiquage sur milieu sans pénicilline. La fig. 2 nous donne le résultat de ces essais.

La courbe 1 représente la culture du staphylocoque non adapté. Les courbes 2, 3, 4, 5, en présence de 0,08 unité de pénicilline par 20 cm³, représentent la croissance des souches adaptées, après 1, 3, 6, 9 passages sur milieu gélose ordinaire. La courbe 6 est la croissance en présence de 0,08 unité de pénicilline du Staphylocoque non adapté. Ces courbes nous montrent que l'adaptation diminue au cours de passages successifs, mais que cette diminution varie très lentement. Les temps moyens de génération, qui

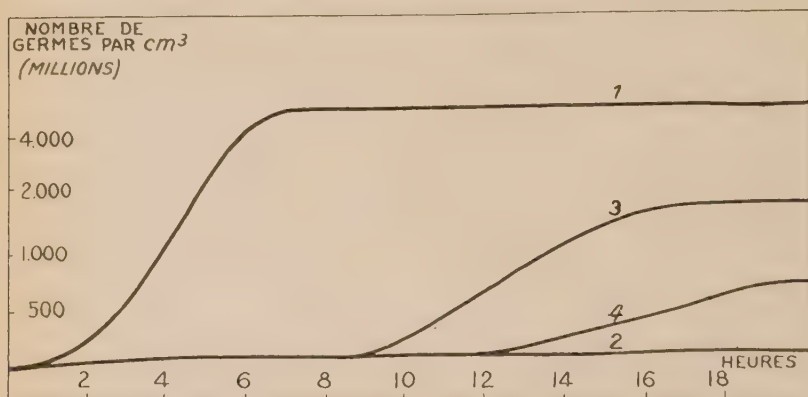


FIG. 3.

n'augmentent que très peu à cette période, semblent toutefois progresser plus vite pour les souches successives (fig. 3). L'expérience suivante le montre :

Courbe 1. — Croissance du Staphylocoque normal en milieu ordinaire.

Courbe 2. — Croissance du même Staphylocoque en présence de 1 unité de pénicilline pour 20 cm³.

Courbe 3. — Croissance — en milieu à la pénicilline : 1 unité pour 20 cm³ — du Staphylocoque adapté après 15 passages sur milieu à la pénicilline.

Courbe 4. — Croissance — en milieu à la pénicilline : 1 unité pour 20 cm³ — du Staphylocoque adapté par 15 passages sur milieu à la pénicilline, puis repiqué 15 fois sur gélose sans pénicilline.

La comparaison des courbes 3 et 4 nous montre que le *temps moyen de génération* est deux fois plus grand avec la souche adaptée, mais repiquée 15 fois sur milieu sans pénicilline.

c) COMPORTEMENT DES SOUCHES ADAPTÉES A LA PÉNICILLINE
A L'ÉGARD DU SULFATHIAZOL ET DU BACTÉRIOPHAGE.

Nous avons recherché si les souches adaptées et non adaptées à la pénicilline se comportaient de façon différente à l'égard des sulfamides. Nous avons réalisé plusieurs expériences avec le Thiazomide (2090 RP) ; nous donnons ci-dessous l'un de ces essais (fig. 4) :

Courbe 1. — Culture Staphylocoque normal.

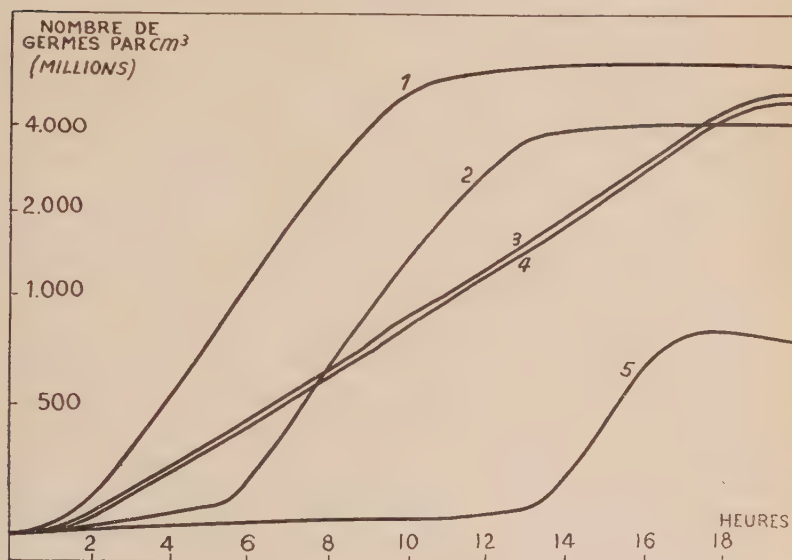


FIG. 4.

Courbe 2. — Culture Staphylocoque accoutumé par 16 passages sur pénicilline + 0,15 unité pénicilline.

Courbe 3. — Culture Staphylocoque normal + 2 mg. Thiazomide.

Courbe 4. — Culture Staphylocoque accoutumé par 16 passages sur pénicilline + 2 mg. Thiazomide.

Courbe 5. — Culture Staphylocoque normal + 0,15 unité pénicilline.

La comparaison des courbes 3 et 4 montre que le Staphylocoque adapté à la pénicilline se comporte à l'égard du Sulfathiazol comme la souche ordinaire (même en temps moyen de génération). Les 2 courbes sont pratiquement superposées.

Nous avons enfin examiné si l'adaptation à la pénicilline appor-

tail des modifications à la bactériophagie. Nous n'avons constaté aucune différence. En effet, si on effectue des titrages par dilution avec le bactériophage *Boulgakow N B*, on voit que l'aspect des plages et leur nombre sont approximativement les mêmes pour la souche ordinaire et la souche adaptée de Staphylocoque Cheftel.

CONCLUSIONS.

Par cultures successives et quotidiennes en milieu contenant des quantités variables de pénicilline, nous avons obtenu en dix jours une souche adaptée à la pénicilline (environ 10 fois la dose inhibitrice ordinaire). Ceci confirme les travaux de Florey [1], de Rammelkamp [2] et de leurs collaborateurs.

Nous avons étudié l'évolution de cette adaptation par l'examen de courbes de croissance de la souche adaptée, repiquée chaque jour sur milieu sans pénicilline. Ces courbes de croissance ont été réalisées automatiquement par le *microbiophotomètre enregistreur*.

Nous avons pu mettre en évidence les caractères suivants :

1° La souche considérée s'adapte plus vite qu'elle ne perd son adaptation.

2° Pour les doses de pénicilline inférieures à la dose maximum à laquelle la souche a été adaptée, nous avons obtenu des courbes de croissance présentant une phase de multiplication ralentie (consécutives à la phase de latence), d'aspect à peu près linéaire, se raccordant à une branche exponentielle normale. Parfois, nous avons constaté dans cette dernière partie une diminution du temps moyen de génération par rapport à la culture témoin. Ceci semblerait coïncider avec une hypothèse de Hinselwood et de ses collaborateurs sur le mécanisme de l'adaptation des microbes aux antiseptiques. Nos résultats tendent à confirmer leur hypothèse selon laquelle l'adaptation serait due à une variation de l'équilibre enzymatique des microbes [8].

3° La souche adaptée se comporte comme la souche normale en présence du Bactériophage et du Sulfathiazol.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ABRAHAM (E. P.), CHAIN (E.), FLETCHER (C. M.), GARDNER (A. D.), HEATLY (N. G.), JENNINGS (M. A.) et FLOREY (H. W.). *Lancet*, 1941, 177.
- [2] RAMMELKAMP (C. M.) et MAXON (T). *Proceed. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1942, 51, 386 ; 1943, 53, 33.
- [3] DEMEREC (M.). *Proceed. Nat. Acad.*, 1945, 31, 16.
- [4] Cette souche nous fut obligeamment donnée par M. BOYER, du Laboratoire de Bactériologie du Service de Chimiothérapie.

- [5] Au terme d'adaptation, nous ne donnons pas le sens strict adopté par les généticiens, qui préjugerait du mécanisme exact du phénomène que nous décrivons, mais celui que lui attribue C. N. Hinshelwood et ses collaborateurs. (D. S. DAVIES, C. N. HINSHELWOOD et A. M. JAMES, *Trans. Faraday Soc.*, 1947, **43**, 138.)
- [6] FAGUET (M.). *C. R. Acad. Sci.*, 1932, **194**, 1763 ; *Act. Sci. Indust.*, Hermann, édit., Paris, 102 pages, 1941, **898** ; FAGUET (M.) et NITTI (F.). *Ces Annales*, 1943, **69**, 126 ; FAGUET (M.). *J. Suisse de Médecine*, 1946, **761**, 1135.
- [7] Temps nécessaire à la culture pour doubler.
- [8] PRYCE (J. M.) et HINSHELWOOD (C. N.). *Trans. Faraday Soc.*, 1947, **43**, 742.

RECHERCHES SUR LA CROISSANCE DU *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN CULTURE HOMOGÈNE

par W. SCHAEFER (*).

(Institut Pasteur, Laboratoires de recherches sur la Tuberculose.)

L'étude de la croissance du *Mycobacterium tuberculosis* en fonction de la nature et de la concentration des aliments ne semble pas avoir été faite, jusqu'à présent, d'une manière quantitative par suite, semble-t-il, du manque d'une méthode adéquate. En effet, la détermination de la substance bacillaire par pesée ou par dosage de sa teneur en azote (G. P. Youmans) [1] est longue et laborieuse. L'application des méthodes opacimétriques s'est heurtée à la difficulté d'obtenir des cultures homogènes, mais elle est devenue possible depuis que R. Dubos a montré que l'on obtient une croissance dispersée du bacille en ajoutant au milieu de culture un corps mouillant, le « Tween 80 » ou ester polyoxyéthylénique du monooléate du sorbitan. Un premier essai d'utilisation d'un milieu à base de « Tween 80 » pour l'étude de la nutrition des mycobactéries a été fait par D. G. Smith [2].

Le « Tween 80 » a non seulement des propriétés émulsionnantes, mais il est, comme R. Dubos et B. Davis [3, 4] l'ont montré, un aliment pour le bacille de Koch. Il possède, en outre, une certaine toxicité due à la présence d'acide oléique libre. Pour neutraliser cette toxicité du « Tween », il est nécessaire d'ajouter au milieu de culture une certaine quantité de sérum-albumine. Mais la sérum-albumine, elle aussi, contient des substances qui peuvent servir d'aliment au bacille.

Pour pouvoir utiliser un milieu contenant le « Tween » et la sérum-albumine comme milieu de base pour l'étude de la croissance de *M. t.* en fonction de la nature et de la concentration d'un aliment carboné donné, il est donc nécessaire de réduire au minimum la cause d'erreur due aux aliments apportés par le « Tween » et la sérum-albumine. Nous avons atteint ce but en réduisant la quantité de « Tween » et de sérum-albumine au strict minimum permettant une croissance homogène et la non-toxicité du milieu.

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 13 mai 1948.

Et aussi, en épuisant les aliments apportés par ces deux substances par la croissance même du *Mycobacterium*. L'expérience proprement dite n'est commencée que lorsque la croissance dans le milieu de base s'est arrêtée.

Le milieu de base a la composition suivante :

NH ₄ Cl	0,2 g.
KH ₂ PO ₄	0,1 g.
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	0,625 g.
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,0005 g.
Citrate de fer ammoniacal	0,005 g.
« Tween 80 »	0,02 g.
Sérum-albumine fraction V	0,1 g.
Eau distillée	100,00 g.

MÉTHODE DE CULTURE. — Ce milieu, introduit dans une boîte de Roux en couche mince, est ensemencé avec un centième de son volume d'une suspension bacillaire lavée provenant d'une culture sur milieu de Dubos. Nos recherches ont été effectuées avec une souche humaine virulente (Souche Brévannes). La croissance sur le milieu de base se poursuit pendant quelques jours puis devient négligeable.

À ce moment, on répartit la culture dans une série de tubes recouverts d'une capsule d'étain et stérilisés préalablement à l'autoclave. Ces tubes, en verre pyrex, à section carrée et à faces parallèles (côté 13 mm., hauteur 160 mm.), sont couramment utilisés au laboratoire de physiologie microbienne de l'Institut Pasteur pour les mesures opacimétriques et en particulier pour suivre la croissance des cultures.

On introduit dans chaque tube 4 cm³ de culture et, en outre, sous un volume de 1 cm³, l'aliment carboné à la concentration voulue. Un tube témoin est additionné d'eau bidistillée au lieu et place de l'aliment carboné.

Après l'introduction des aliments carbonés, les capuchons d'étain sont remplacés par des tampons de coton stérile. Chaque tube est bouché, en outre, avec un bouchon de caoutchouc et paraffiné pour éviter l'évaporation du milieu. Les tubes sont maintenus en position inclinée dans une étuve à 38°.

La quantité d'air contenue dans le tube suffit pour assurer l'oxygénation complète pendant une phase assez longue de la croissance. Il suffit d'agiter les tubes deux fois par jour. L'agitation continue est à déconseiller, elle favorise en effet la formation de gros grumeaux et retarde la croissance.

MÉTHODE DE MESURE. — Les mesures de la densité optique sont effectuées deux fois par jour au moyen de l'électrophotomètre de P. Meunier. La densité optique de la culture, exprimée en unités lues sur le tambour de l'appareil, est calculée en prenant la diffé-

rence entre la densité optique du tube de la culture en voie de croissance et celle du tube contenant le milieu non ensemencé. Chaque unité correspond, d'après nos mesures, à un poids de bacilles secs d'environ $0,3 \mu\text{g. par cm}^3$.

Nous avons vérifié que les lectures de l'appareil sont proportionnelles aux dilutions d'une même suspension du *Mycobacterium* cultivé sur milieu de Dubos. L'étude du rapport entre le poids de substance sèche de la culture et la densité optique *au cours de la croissance* n'a pas encore été faite, mais d'après les expériences de J. Monod [5], faites sur d'autres microbes, il est à présumer que les mesures de la densité optique correspondent au poids de la substance bactérienne plutôt qu'au nombre de bacilles.

La culture de *Mycobacterium tuberculosis* se développe dès le début sur le milieu de base additionné d'un aliment carboné convenable d'une manière exponentielle et on n'observe pas de phase de latence.

Le *taux de croissance* étant défini comme le nombre de divisions par jour, il est commode d'exprimer les densités optiques en coordonnées semi-logarithmiques en utilisant les logarithmes à base 2. Dans ces conditions, un accroissement d'une unité en ordonnées correspond à un doublement de la densité optique et le *temps de division* peut être lu directement sur les graphiques.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX. — Voici quelques résultats obtenus avec cette méthode :

Sur le milieu indiqué, *M. t.* se montre capable d'utiliser certains aliments carbonés qui étaient considérés jusqu'à présent comme non utilisables par ce bacille. En effet, *M. t.* se développe non seulement en présence de glycérol et de glucose, mais encore parfaitement bien en présence de lactate de sodium à la concentration de 0,1 g. p. 100. En présence de quantités supérieures de lactate (0,5 à 1 p. 100), sa croissance est ralentie ou supprimée. L'acétate de sodium peut servir également d'aliment carboné à des concentrations allant de 0,14 à 0,7 p. 100 mais une concentration de 1,4 p. 100 ralentit la croissance. Le citrate de sodium à la concentration de 0,5 à 0,1 p. 100 ne donne lieu à aucune croissance appréciable. Le succinate de sodium à la concentration de 0,1 et 1 p. 100 permet un développement très lent. En présence de pyruvate de sodium, à la concentration de 0,1 p. 100 on observe une croissance lente, mais des concentrations inférieures (0,02 à 0,05 p. 100) ne permettent pas de croissance appréciable.

Le fait que *M. t.* utilise un plus grand nombre d'aliments carbonés sur le milieu à base de « Tween » et de sérum-albumine que sur les milieux de base dépourvus de ces substances (H. Braun et S. Kondo [6], M. H. Merrill [7]) montre que les propriétés biochimiques de *M. t.* sont moins restreintes qu'on ne l'a admis.

D'ailleurs les résultats fournis par l'étude de la croissance semblent concorder avec ceux donnés par l'étude de la respiration dans l'appareil de Warburg. Ces expériences ont montré notamment que le lactate (Loebel, Shorr et Richardson [8]) et l'acétate (F. Bernheim [9], H. Bloch et Suter [10]) donnaient lieu à une consommation d'oxygène.

Il reste à savoir pourquoi *M. t.* peut utiliser pour sa croissance un plus grand nombre d'aliments carbonés dans le milieu de

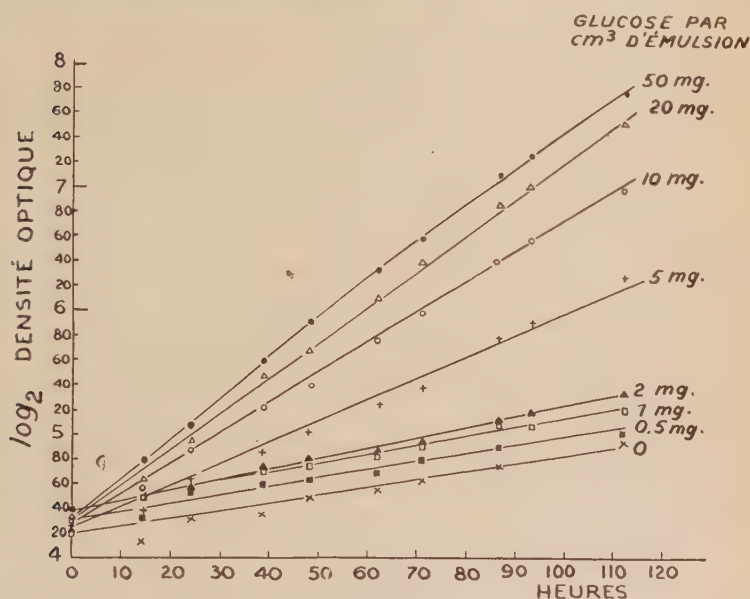


FIG. 1. — Croissance du *Mycobacterium tuberculosis* en présence de différentes concentrations de glucose. Ordonnée : \log_2 de la densité optique. Abscisse : temps.

« Tween »/sérum-albumine que sur les milieux synthétiques ordinaires. L'explication de ce fait peut être trouvée dans les observations de Dubos et Davis (*loc. cit.*) concernant l'action antagoniste de la sérum-albumine vis-à-vis de la toxicité des acides gras. Les sels des acides lactique et acétique sont également toxiques dès que leur concentration dans le milieu à base de « Tween »/sérum-albumine dépasse un certain seuil. En présence de sérum-albumine, le seuil de toxicité ne serait atteint que pour des concentrations plus élevées qu'en l'absence de sérum-albumine.

L'étude du taux de croissance en fonction de la concentration de l'aliment carboné fournit également quelques données. En présence de glycérol, ce taux est pratiquement indépendant de la

concentration initiale de cet aliment, entre les limites étudiées (0,02 à 2 p. 100). Au contraire, en présence de glucose, le taux de croissance varie fortement avec la concentration du sucre (fig. 1). Le taux de croissance est extrêmement faible pour des concentrations initiales de 0,05 à 0,2 g. p. 100, il s'accroît avec la concentration en glucose, mais n'atteint son maximum que pour des concentrations de l'ordre de 1 p. 100.

Si l'on représente le taux de croissance en fonction de la concentration initiale du glucose, on obtient une courbe hyperbolique

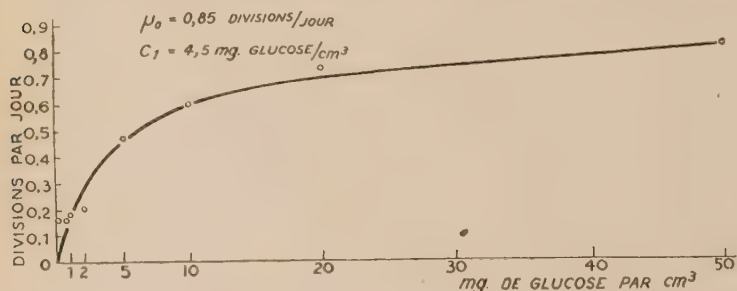


FIG. 2. — Taux de croissance des cultures de *Mycobacterium tuberculosis* en milieu de « Tween » sérum-albumine en fonction de la concentration du milieu en glucose. Courbe d'interpolation calculée d'après l'équation :

$\mu = \mu_0 \frac{C}{C_1 + C}$; μ , taux de croissance correspondant à la concentration C ; μ_0 , taux de croissance maximum ; C_1 , concentration d'aliment pour laquelle le taux de croissance est égal à la moitié du taux maximum ; C , concentration actuelle (1).

analogue par son allure d'ensemble aux courbes du taux de croissance en fonction de la concentration de l'aliment, obtenues avec d'autres espèces microbiennes [J. Monod, *loc. cit.*] (fig. 2). Mais il est permis de signaler comme un fait remarquable que la saturation, c'est-à-dire le taux de croissance maximum, n'est obtenue qu'avec des concentrations de sucre à peu près 500 fois plus élevées que dans le cas d'*Escherichia coli* ou de *Bacillus subtilis* par exemple [J. Monod, *loc. cit.*].

Pour expliquer ce fait, deux hypothèses pourraient être envisagées :

1° L'affinité des enzymes de *M. t.* assurant le métabolisme du glucose serait si faible que la saturation ne serait atteinte que pour des concentrations extrêmement élevées.

2° La perméabilité de la surface de *M. t.* pour le glucose serait

(1) Les taux de croissance pour les concentrations faibles de glucose paraissent trop élevés. Ceci s'explique par le fait qu'il y a une légère croissance sur le milieu de base en absence d'aliments.

si faible que seules les concentrations élevées de glucose dans le milieu extérieur permettraient la pénétration à une vitesse suffisante pour assurer la saturation des enzymes du bacille. Des recherches en cours nous permettront peut-être de choisir entre ces deux hypothèses.

RÉSUMÉ. — Nous décrivons une méthode pour l'étude quantitative de la croissance du *Mycobacterium tuberculosis* en culture homogène. Cette méthode est appliquée à l'étude de l'utilisation de divers aliments carbonés pour la croissance du *M. t.* Il est montré que *M. t.* utilise sur un milieu à base de « Tween » et de sérum-albumine, non seulement le glycérol et le glucose, mais encore l'acétate, le lactate et, à un degré plus faible, le pyruvate et le succinate si ces corps sont ajoutés en concentration convenable. En présence de glucose, le taux de croissance dépend de la concentration de l'aliment. La signification de ces observations est discutée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] YOUNG (G. P.). *J. Bact.*, 1946, **51**, 703.
- [2] SMITH (D. G.). *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1947, **64**, 36.
- [3] DUBOS (R. J.) et DAVIS (B. D.). *J. exp. Med.*, 1946, **83**, 409.
- [4] DUBOS (R. J.). *J. exp. Med.*, 1947, **85**, 9.
- [5] MONOD (J.). *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*. Herrman et C^{ie}, éditeurs, Paris, 1942.
- [6] BRAUN (H.) et KONDO (S.). *Klin. Wochenschr.*, 1924, 10.
- [7] MERRIL (M. H.). *J. Bact.*, 1931, **21**, 361.
- [8] LOEBEL (R. O.), SHORR (E.) et RICHARDSON (H. B.). *J. Bact.*, 1933, **26**, 139.
- [9] BERNHEIM (F.). *J. Bact.*, 1941, **41**, 387.
- [10] BLOCH (H.) et SUTER (E.). *Schw. Z. allg. Path. u. Bakt.*, 1946, **9**, 435.

L'UTILISATION PAR OXYDATION DE QUELQUES SUBSTANCES AZOTÉES PAR LE BACILLE DE KOCH

par A. ANDREJEW (*).

(Institut Pasteur, Laboratoires de Recherches sur la tuberculose.)

Les besoins en carbone de certains microorganismes, tels que *Ps. aminovorans* a ou *Bac. putrida* peuvent être satisfaits par un très grand nombre d'amines. Certains germes, par contre, se révèlent incapables de décomposer les acides aminés même les plus simples (*Microc. albus*) ou ne les décomposent qu'en très petit nombre (*Bac. mycoïdes*).

D'autre part, comme nous le voyons dans le cas de *Bact. typhosum*, le glycocolle, tout en étant rapidement oxydé au cours de la culture, ne peut subvenir à sa croissance.

Puisque la consommation (oxydation) des amino-acides n'est pas nécessairement liée à la croissance des germes, il nous a paru préférable, dans nos recherches dirigées dans ce sens et consacrées aux bacilles tuberculeux, de suivre directement cette oxydation (et, dans certains cas, la production du gaz carbonique) au moyen de l'appareil de Warburg.

I. — ACIDES AMINÉS EN TANT QUE SEULE SOURCE DE CARBONE.

Pour rendre ces observations possibles, il a fallu tout d'abord écarter, dans la mesure du possible, la difficulté suivante, propre aux bacilles acido-résistants : privés de matières nutritives, ces germes utilisent les réserves accumulées antérieurement, qui leur permettent, lorsqu'ils sont à l'état humide, de respirer pendant fort longtemps. Pour réduire au minimum l'effet de cette « respiration résiduelle », due aux particules nutritives emportées, nous avons donc été amené à appliquer la technique du jeûne préalable.

La souche H512 de bacilles tuberculeux humains virulents est cultivée à la surface du milieu de Sauton. Au bout de quatorze à dix-huit jours, selon les expériences, on remplace aseptiquement le milieu

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 8 avril 1948.

par une même quantité de solution de famine composée d'eau physiologique isotonique, soit pure, soit tamponnée ($\text{pH} = 7,2$) aux phosphates M/150, suivant les besoins. Dans tous les cas, on laisse le voile microbien à la surface du liquide. Les cultures ainsi traitées sont remises à l'étuve (38°) pour une durée de un à dix-neuf jours. Les bacilles ayant subi le jeûne sont alors prélevés, pesés et mis en suspension, soit dans le milieu de famine additionné d'une substance azotée, soit dans le milieu de Sauton normal ou enrichi en produits azotés. La consommation de O_2 et la production de CO_2 sont précisées à l'aide des manomètres de Warburg, par double ou triple épreuve et toujours en présence d'un témoin. La vitalité de la culture ainsi que le poids de bacilles secs sont établis pour chaque série d'expériences.

Nous avons éliminé toutes les cultures à mortalité bacillaire massive et n'avons tenu compte que des résultats acquis sur des voiles microbiens qui, après le jeûne, restaient repiquables à la surface du milieu de Sauton. Ensuite nous avons utilisé, dans chaque série d'expériences, la même suspension bacillaire. Par conséquent, même si le jeûne tuait un certain nombre de bacilles, leur proportion restant la même pour toute la série, le taux de la mortalité éventuelle n'avait, dans ce cas, aucune importance. Seules les variations de l'intensité respiratoire constatées en présence de la substance azotée et établies soit par rapport au niveau du jeûne, soit en comparaison avec le glucose, importaient réellement dans cette partie de l'étude.

Afin de parer, d'autre part, à une réaction fortement alcaline pouvant être due à la naissance de bases (amines) consécutive à la décarboxylation éventuelle des amino-acides par les bacilles, nous avons utilisé, dans la majeure partie de ces expériences, la solution de famine au pH tamponné (7,2) en qualité de support.

Les résultats suivants (Tableau I) correspondent à la moyenne horaire des mesures de la consommation d'oxygène effectuée pendant quatre heures à $37,5$ - 38° .

Bien que la souche, l'âge des bacilles et les conditions du jeûne soient semblables, la baisse respiratoire qui en résulte varie parfois suivant les ballons. C'est pourquoi chaque expérience nécessite un témoin particulier.

En tant que source unique de carbone, les acides aminés à 4 p. 1.000 (concentration couramment employée dans les milieux de culture) n'apportent pratiquement aucune énergie aux bacilles tuberculeux. Les très légères variations respiratoires que l'on constate dans certains cas ne dépassent d'ailleurs nulle part les limites de l'erreur tolérée par le procédé, surtout lorsqu'il s'agit des chiffres les plus bas.

En étudiant, au moyen de l'appareil de Warburg, l'influence de quelques amino-acides sur la consommation d'oxygène des bacilles tuberculeux, Nakamura a également abouti à des résultats négatifs pour la plupart. Seuls, le sel de Na de l'acide glutamique à 1 p. 100 a augmenté la consommation de O_2 de 21,2 p. 100 et le glycocolle à 5 p. 100 de 10 p. 100. Cet auteur

TABLEAU I. — Influence des amino-acides sur Q_{O_2} .

NUMÉROS	AGE DE LA CULTURE en jours (1)	DURÉE DU JEÛNE en jours	Q _{O₂} EN MILIEU DE FAMINE ADDITIONNÉ DE 0,4 p. 100 DE :										
			Asparagine	Glycocolle	d-Arginine	L-Histidine	L-Tyrosine	L-Cystine	L-Leucine	Sarcosine	Ac. aspartique	Taurine	Témoin
1	15	16			0	0,56							0,53
2	15	17											1,23
3	15	18					1,02		1,47	1,48			1,10
4	15	19	0,32	0,23				1,04					0,20
5	14	15	1,48										1,4
6	15	1									0,77	1,46	2,28

NUMÉROS	AGE DE LA CULTURE en jours (1)	DURÉE DU JEÛNE en jours	Q _{O₂} EN MILIEU DE FAMINE + 1 p. 100 DE :										
			Asparagine	Glycocolle	d-Arginine	L-Histidine	L-Tyrosine	L-Cystine	L-Leucine	Sarcosine	Ac. aspartique	Taurine	Témoin
7	14	14	1,75										1,71
8	14	15	1,33										1,34
9	14	4		2,63						2,61			1,97
10	18	7	1,30			1,17							1,46
11	18	8			1,30				1,97				2,63
12	15	7										2,19	2,55

(1) Nombre de jours sur milieu de Sauton.

(1) Nombre de jours sur milieu de Sauton.

n'a cependant pas appliqué aux bacilles la technique du jeûne préalable et n'a étudié qu'un très petit nombre de substances azotées à côté de nombreux carbohydrates. En outre, ses mesures étaient effectuées sur des cultures âgées de trois à quatre semaines et ne dépassaient généralement pas une demi-heure par expérience.

En ce qui concerne les acides aminés en solution plus concentrée (1 p. 100), nous avons dû renoncer à l'étude de la tyrosine et de la cystine car ils ne se dissolvent dans l'eau qu'à moins de 1 p. 1.000. La mauvaise solubilité de la leucine et de l'acide aspartique présentait le même obstacle.

Parmi les acides aminés dont nous avons pu étudier les concentrations plus élevées (1 p. 100) en milieu de famine, la sarcosine et le glycocolle nous paraissent particulièrement intéressants.

Contrairement aux autres acides aminés étudiés qui, comme le

montre le tableau I, n'exercent aucune influence appréciable sur la respiration des bacilles tuberculeux, la sarcosine et le glyco-colle augmentent progressivement l'intensité respiratoire de ces germes en milieu de famine dès le début de l'expérience.

Une culture de bacilles H512, âgée de quatorze jours sur milieu de Sauton, après avoir subi un jeûne de quatre jours à

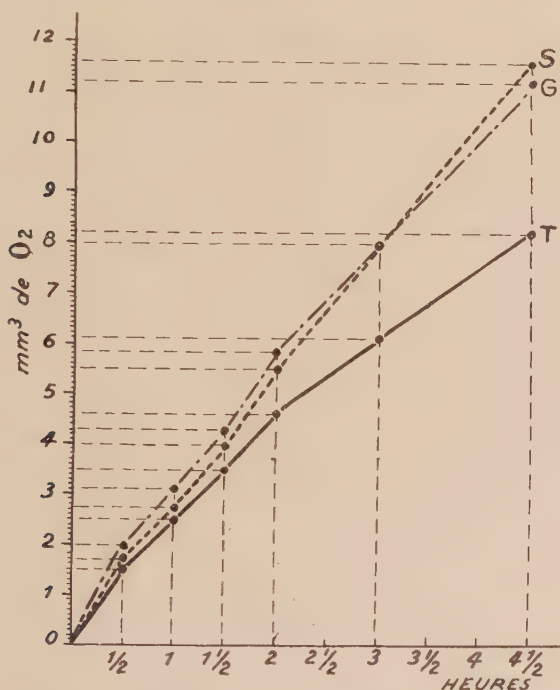


FIG. 1. — Intensité respiratoire des bacilles tuberculeux : T, dans le milieu de famine ; G, dans le milieu de famine additionné de 1 p. 100 de glyco-colle ; S, dans le milieu de famine renfermant 1 p. 100 de sarcosine.

38°, nous a donné en milieu de famine pur et en milieu de famine additionné soit de 1 p. 100 de sarcosine, soit de 1 p. 100 de glyco-colle, les résultats rapportés au tableau II.

Dans des conditions semblables et sur une culture de H512, âgée de douze jours et ayant subi cinq jours de jeûne, nous avons obtenu en trois heures, dans le milieu de famine additionné de 1 p. 100 de glucose, une augmentation de Q_{O_2} de 43,3 p. 100 par rapport au témoin. Le Q_{O_2} enregistré après trois heures en présence de la sarcosine (1 p. 100) ou du glyco-colle (1 p. 100) dénote

TABLEAU II. — Influence de la sarcosine et du glyocolle sur la respiration des bacilles tuberculeux.

MILIEU DE FAMINE additionné de 1 p. 100 de :	MILLIMÈTRES CUBES DE O ₂ consommé par milligramme de bacilles secs en :					
	1/2 heure	1 heure	1 h. 1/2	2 heures	3 heures	4 h. 1/2
Sarcosine	4,70	2,68	4,00	5,56	8,42	11,77
Glyocolle	4,95	3,46	4,37	5,94	8,42	11,32
Témoin	4,51	2,51	3,52	4,65	6,04	8,31

une augmentation de 34 p. 100 environ par rapport au témoin. On voit donc qu'au point de vue de la respiration, la valeur de ces acides aminés (pour H512) est tout à fait remarquable puisque, dans les mêmes conditions d'expériences, elle n'est inférieure à celle du glucose que de 10 p. 100 environ.

L'étude du quotient respiratoire, pour le glyocolle, nous a fourni les résultats suivants :

La culture de H512, âgée de quinze jours, après cinq jours de jeûne, consommait 159,16 mm³ de O₂ et produisait 127,3 mm³ de CO₂ en quatre heures et demie à 38° par centimètre cube de la suspension renfermant 1 p. 100 de glyocolle et 14,5 mg. (poids sec) de bacilles dans de l'eau physiologique isotonique. Le Q.R. étant de 0,8 environ; il correspond, semble-t-il, malgré le jeûne, à une nutrition complexe où les graisses, les restes du milieu de Sauton et le glyocolle peuvent trouver leur place.

Puisque le Q.R. n'apportait, dans ce cas, aucune indication précise, il nous a paru utile de compléter cette observation par l'étude de la croissance de H512 dans le milieu de Sauton dont nous avons remplacé, d'une part, la glycérine par 5 p. 100 de glyocolle (milieu I) et, d'autre part, l'asparagine par 0,4 p. 100 de glyocolle (milieu II). Nous avons cherché ainsi à apprécier la valeur du glyocolle, d'abord en tant que source de carbone (milieu I) et ensuite en tant que source d'azote (milieu II). Les résultats ainsi obtenus étaient suffisamment distincts à l'œil nu pour rendre inutile la pesée des récoltes bacillaires. Les deux milieux au glyocolle se sont en effet révélés incomparablement inférieurs au milieu de Sauton normal. En tant que source d'azote, le glyocolle, tout en étant nettement inférieur à l'asparagine, donne néanmoins une bonne culture. Par contre, en tant que source de carbone, l'effet du glyocolle est invariablement médiocre. La semence (un fragment de voile très jeune de H512) a pu néanmoins quadrupler sa surface initiale en cinq semaines à 38°.

Ce fait apporte par conséquent la preuve qu'une certaine croissance des bacilles tuberculeux peut s'effectuer aux dépens du glyocolle, qui peut être utilisé par ces bacilles, non seulement en tant que source d'azote, mais aussi comme source de carbone.

II. — ACIDES AMINÉS EN PRÉSENCE D'UNE SOURCE DE CARBONE.

En étudiant les variations du rendement en poids des bacilles tuberculeux en fonction de la concentration du milieu de Sauton en asparagine, Goyal a trouvé qu'en six semaines à 38°, la récolte bacillaire (souche humaine « Test ») augmentait de 166 mg. (soit de 15 p. 100 environ) pour 100 cm³ de milieu, lorsqu'on portait le taux d'asparagine de 0,4 à 1 g. p. 100.

Du fait que la récolte de bacilles tuberculeux augmente lorsqu'on enrichit le milieu de culture en asparagine, on pouvait être tenté de penser que cette substance, à doses élevées, servait d'aliment d'épargne du composé carboné (glycérine). Frouin et Guillaumie ont d'ailleurs abouti à cette conclusion, après avoir dosé la glycérine du milieu renfermant 1 p. 100 d'asparagine et celle du milieu normal; les deux milieux ayant servi à la culture de bacilles tuberculeux. Ces résultats étaient indépendants du pH du milieu (7 ou 6).

Dans nos expériences effectuées simultanément, d'une part en milieu de Sauton normal renfermant 0,4 p. 100 d'asparagine et, d'autre part, en milieu de Sauton normal renfermant 1 p. 100 d'asparagine nous avons cherché à préciser l'influence d'un excès d'asparagine sur la consommation de l'oxygène et la production du gaz carbonique par les bacilles tuberculeux et répondre ainsi aux questions suivantes :

Y a-t-il une économie de carbone respiré (CO₂) en présence de 1 p. 100 d'asparagine ?

Cet excès d'asparagine exerce-t-il un effet stimulant sur les échanges respiratoires des bacilles se trouvant en présence d'une source carbonée (glycérine) ?

CONSOMMATION D'OXYGÈNE. — Dans la première expérience nous avons utilisé une culture sur milieu de Sauton de bacilles H512, âgée de douze jours. La suspension qui a servi aux mesures respiratoires renfermait 14,5 mg. (poids sec) de bacilles par centimètre cube.

En milieu de Sauton normal (0,4 p. 100 d'asparagine) nous avons enregistré, après quatre heures de mesures à 38°, une moyenne de 9,4 mm³ de O₂ consommé par milligramme de bacilles secs et par heure.

La même suspension, enrichie en asparagine (1 p. 100), a consommé dans les mêmes conditions, 10,4 mm³ de O₂ par milligramme de bacilles secs et par heure.

La même suspension, faite dans le milieu de Sauton normal et additionnée de 0,6 p. 100 de glyocolle (ce qui porte à 1 p. 100 l'ensemble

des acides aminés présents) a utilisé, dans les mêmes conditions, 9,5 mm³ de O₂ par milligramme de bacilles secs et par heure.

Dans la deuxième expérience, effectuée dans le même sens, nous avons utilisé, comme précédemment, une culture de H512 sur milieu de Sauton âgée de vingt et un jours. La suspension qui a servi aux mesures respiratoires contenait 15 mg. (poids sec) de bacilles par centimètre cube de milieu de Sauton.

Après quatre heures de mesures, nous avons constaté une consommation moyenne de 8,42 mm³ de O₂ par milligramme de bacilles secs et par heure en milieu de Sauton renfermant 1 p. 100 d'asparagine contre 8,06 mm³ de O₂ en milieu de Sauton normal.

En présence d'une source carbonée (glycérine), l'asparagine à 1 p. 100 semble donc exercer sur l'intensité respiratoire des bacilles tuberculeux un léger effet stimulant. Ce phénomène ne paraît cependant pas être dû au fait de l'enrichissement du milieu en azote, car lorsqu'on substitue partiellement le glycocolle à l'asparagine, tout en respectant le taux global de 1 p. 100, l'effet stimulant observé devient pratiquement négligeable. Il est donc évident qu'à ce point de vue, les divers acides aminés exercent des influences variables selon leur nature et leur concentration.

QUOTIENT RESPIRATOIRE. — Dans l'expérience consacrée au quotient respiratoire, nous avons employé la même souche (H512), âgée de neuf jours, sur milieu de Sauton. La suspension destinée aux mesures respiratoires contenait 11,2 mg. de bacilles secs par centimètre cube de milieu de Sauton (pH=6); ces bacilles provenaient en grande partie de la semence initiale.

Après trois heures de mesures à 38°, nous avons obtenu, pour le milieu de Sauton à 1 p. 100 d'asparagine, une consommation de O₂ de 5,61 mm³ par milligramme de bacilles secs et par heure avec une production correspondante de CO₂ de 4,73 mm³.

En milieu de Sauton normal, la même suspension microbienne a consommé 5,26 mm³ de O₂ avec un dégagement de 4,46 mm³ de CO₂.

Le Q.R. est de 0,84 dans les deux cas (fig. 2).

On voit donc qu'il existe, dans ces conditions, un parallélisme entre la consommation de O₂ et la production de CO₂ : si les bacilles consomment plus d'oxygène en présence d'un excès d'asparagine, ils produisent également plus de CO₂; le rapport reste le même dans les deux cas.

Étant donné que, comme nous l'avons vu, même en six semaines d'étuve, la récolte de bacilles cultivés en surface varie peu dans ces conditions (c'est-à-dire en présence de 0,4 ou de 1 p. 100 d'asparagine), leur nombre ne subit donc pratiquement aucun changement susceptible d'influencer la respiration, pendant une heure de mesures. Par conséquent, ces résultats nous permettent

de conclure qu'à ce point de vue, l'excès d'asparagine (1 p. 100), non seulement ne sert pas d'aliment d'épargne de la source carbonée mais, au contraire, semble favoriser un certain gaspillage du carbone (rejeté sous forme de CO_2) par une légère augmentation de l'intensité respiratoire des bacilles. S'il y a, dans ces conditions, épargne du carbone, elle devrait donc s'effectuer, semble-t-il, aux dépens du carbone assimilé par les bacilles plutôt qu'aux dépens du carbone respiré. L'idée d'épargne du carbone, dans ce cas, ne semble cependant pas être absolument nécessaire. De nombreux auteurs, et en particulier Bance, ont signalé, en

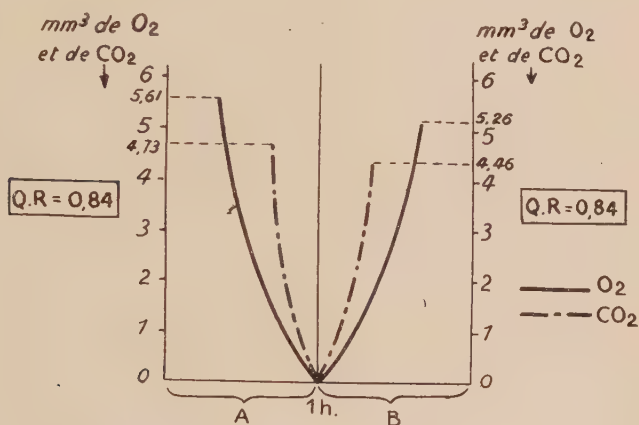


FIG. 2. — Échanges respiratoires : A, dans le milieu de Sauton à 1 p. 100 d'asparagine ; B, dans le milieu de Sauton normal à 0,4 p. 100 d'asparagine.

effet, que les bacilles tuberculeux arrivent souvent au terme de leur croissance, lorsque le milieu de culture renferme encore une quantité appréciable de glycérine (32,5 p. 100 pour le bacille humain). Nous-même avons constaté que ces bacilles provoquent un certain déséquilibre du milieu de culture ; déséquilibre dont la nature et l'importance varient avec les espèces et même les souches de bacilles tuberculeux. Il arrive, par exemple, que l'asparagine soit entièrement transformée au moment où une quantité appréciable de glycérine reste encore inutilisée. Dans ces conditions, la récolte microbienne totale, qui se trouve améliorée en présence d'une plus grande quantité d'asparagine, pourrait également s'expliquer, tout au moins en partie, par un simple rétablissement de l'équilibre entre les constituants principaux du milieu qui en résulte. Ce qui entraînerait une utilisation plus complète de la glycérine restant dans le milieu et, par là, une croissance plus abondante des bacilles, pour la même raison qui fait qu'en portant

en milieu de Sauton le taux insuffisant d'asparagine de 0,1 à 0.8 p. 100, on augmente, d'après Goyal le rendement en poids de ces bacilles de 500 p. 100 en six semaines d'étuve.

III. — AMINES, AMIDES ET SELS D'AMMONIUM.

Après avoir étudié l'effet des acides aminés sur les échanges respiratoires du bacille tuberculeux, nous avons étendu nos observations à d'autres substances azotées, telles que amines, amides, sels organiques d'ammonium et albumine du sérum de bœuf, purifiée par G. Sandor.

Ces expériences effectuées dans les conditions décrites plus haut, nous ont apporté les résultats suivants :

TABLEAU III. — Influence des amines, amides et sels d'ammonium sur Q_{O_2} .

NUMÉROS	AGE DE LA CULTURE sur milieu de Sauton en jours	DURÉE DU JEUNE en jours	QO ₂ EN MILIEU DE FAMINE ADDITIONNÉ DE 0,4 P. 100 DE :								
			Méthylacétamide	Acétanilide	Triéthanolamine	Cadavérine	Lactate d'Am.	Succinate d'Am.	Albumine	Glucose	Témoin
1	15	11		2,31	2,60						2,75
2	15	4	1,48			2,80	5,60	3,11			3,07

NUMÉROS	AGE DE LA CULTURE sur milieu de Sauton en jours	DURÉE DU JEUNE en jours	QO ₂ EN MILIEU DE FAMINE + 1 P. 100 DE :								
			Méthylacétamide	Acétanilide	Triéthanolamine	Cadavérine	Lactate d'Am.	Succinate d'Am.	Albumine	Glucose	Témoin
3	15	11		1,31	2,20						2,75
4	15	4					8,63	3,43			3,07
5	15	10							2	1,9	1,6

La méthylacétamide, la cadavérine, la triéthanolamine, ainsi que, plus irrégulièrement, l'acétanilide n'exercent, à ces concentrations, qu'une certaine baisse sur l'intensité respiratoire des bacilles tuberculeux.

Quant aux sels d'ammonium étudiés, s'ils peuvent dans certains cas servir de source d'azote, leur acide reste néanmoins une

source de carbone importante. Il est en tout cas évident que le lactate d'ammonium est une source excellente de carbone pour le bacille de Koch, puisque même à 0,4 p. 100 cette substance augmente l'intensité respiratoire de près de 85 p. 100 par rapport au niveau du jeûne ; tandis qu'à 1 p. 100 le lactate d'ammonium triple la consommation d'oxygène en milieu de famine.

Avec le lactate de sodium à 5 p. 100, Loebel, Schorr et Richardson ont obtenu une respiration en milieu de famine supérieure à celle fournie par la même concentration de glycérine. Les résultats que nous avons obtenus avec le lactate d'ammonium confirment donc les expériences de Loebel et ses collaborateurs avec le lactate de Na, qui doublait généralement la consommation de O_2 en milieu de famine. Il est toutefois possible que le lactate d'ammonium soit utilisé un peu plus rapidement.

L'albumine du sérum de bœuf que nous avons employée (1) est exempte de globulines mais peut, bien entendu, contenir des quantités plus ou moins importantes de lipides, notamment en état de complexes lipido-protéidiques.

La culture de H 512, âgée de quinze jours et ayant subi un jeûne de dix jours, a été mise en suspension dans l'eau physiologique isotonique et additionnée soit de 1 p. 100 de l'albumine de Sandor, soit de 1 p. 100 de glucose. Leur respiration a été ensuite mesurée pendant quatre heures en présence du témoin.

En prenant pour zéro la respiration du témoin, nous avons ainsi obtenu en moyenne une augmentation de QO_2 de 21,1 p. 100 pour le glucose et de 33,5 p. 100 pour l'albumine.

En comparant cet accroissement de la consommation de O_2 dû au glucose (21,1 p. 100) à celui que nous avons enregistré auparavant (43,3 p. 100) pour la même substance, on voit que ce pourcentage peut varier dans de très larges limites suivant l'âge des bacilles employés et surtout suivant la durée du jeûne. Ces variations peuvent également être dues en grande partie à la technique de Warburg. Il est toutefois indéniable que l'albumine employée présente une source d'énergie supérieure même à celle du glucose. Ce fait peut, toutefois, être dû en partie aux lipides qui l'accompagnent. Nous espérons pouvoir préciser plus tard ce phénomène, avec les albumines cristallisées.

IV. — RÉSISTANCE AU JEUNE ET « AUTO-NUTRITION ».

Au cours des expériences décrites plus haut, nous avons pu faire quelques observations concernant la résistance au jeûne des bacilles tuberculeux. Voici le résumé des résultats obtenus :

(1) Nous devons cette albumine à l'obligeance du Dr G. Sandor, de l'Institut Pasteur.

D'abord, on doit préciser, en ce qui concerne la vitalité, que les voiles bacillaires jeunes conservés en surface du milieu de famine à 38° restaient repiquables sur milieu de Sauton et donnaient des cultures normales après vingt-et-un jours de jeûne. Les voiles de H 512 conservés sur milieu de famine à la température du laboratoire pendant trois mois restaient également repiquables, pour la plupart, sur milieu de Sauton, mais ne donnaient généralement que des cultures tardives.

Cette résistance au jeûne aussi prononcée, même en milieu liquide, nous a incité à préciser la question suivante : aux dépens

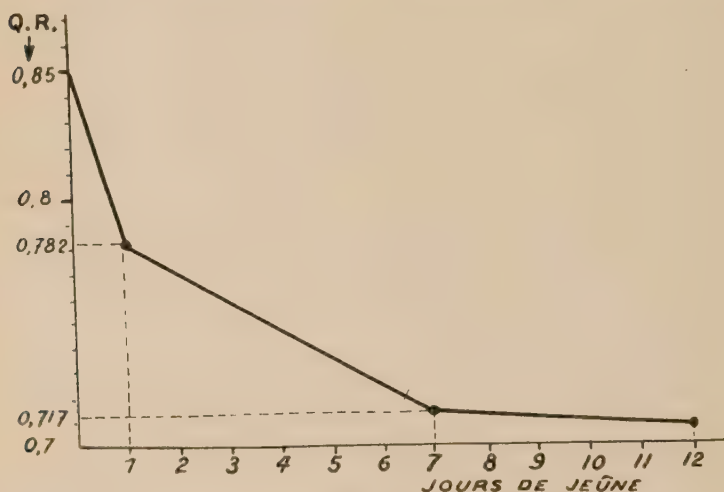


FIG. 3. — Variations du quotient respiratoire au cours du jeûne.

de quoi peuvent respirer les bacilles tuberculeux se trouvant en milieu de famine ?

Pour avoir un indice valable nous avons étudié le quotient respiratoire en fonction de la durée du jeûne et avons cherché ainsi à mettre en évidence la nature du métabolisme en milieu de famine.

Voici le résumé des résultats obtenus :

Au moment où l'on transvase les bacilles du milieu de Sauton sur le milieu de famine, le quotient respiratoire est de 0,85 environ. Il correspond donc à peu près à la consommation de la glycérine.

Après vingt-quatre heures de jeûne à 38°, le quotient respiratoire est de 0,782, et après sept jours, de 0,717.

À partir de sept jours de jeûne, le quotient respiratoire reste très voisin de 0,7, c'est-à-dire correspond à la consommation des graisses.

En utilisant des cultures jeunes pour ces études, et en mettant

chaque fois les bacilles en suspension dans l'eau physiologique vierge, nous avons éliminé les produits de l'autolyse qui, d'ailleurs, ne peut être que négligeable dans ces conditions.

Puisqu'il n'y a aucune graisse d'autre part, ni dans le milieu de Sauton, ni dans le milieu de famine, les deux milieux étant conservés dès le début, suivant les conseils de Drea, dans des ballons soigneusement lavés au mélange sulfochromique, il est donc probable que la respiration des bacilles tuberculeux s'effectue dans ces conditions aux dépens des lipides faisant partie des corps bacillaires mêmes. Et, étant donné la richesse relative de ces bacilles en lipides, lorsqu'ils sont cultivés en milieu de Sauton, ce fait expliquerait aisément la nature de leur résistance au jeûne en milieu liquide.

Il semble donc y avoir deux facteurs distincts et successifs :

1° D'abord la respiration aux dépens des particules nutritives emportées, tout particulièrement de la glycérine, qui donne lieu à un quotient respiratoire oscillant entre celui de la glycérine et celui des graisses. Cette période de baisse constante du quotient respiratoire est de dix jours environ pour H512.

2° Ensuite, il s'établirait une respiration à intensité décroissante et aux dépens des lipides faisant partie des corps bacillaires mêmes. C'est ce phénomène d'« auto-nutrition », qui semble être spécialement important chez les bacilles tuberculeux, qui se trouve à la base de la résistance particulièrement prolongée de ces germes au jeûne.

CONCLUSIONS.

Les recherches sur le comportement du bacille tuberculeux à l'égard des acides aminés, amines, amides et autres substances azotées, employées soit en l'absence, soit en présence d'une source carbonée, ont fourni les résultats suivants :

1° Parmi les acides aminés étudiés, le glycocolle et la sarcosine, employés comme seules sources de carbone, augmentent l'intensité respiratoire des bacilles tuberculeux. Toutes conditions égales, cette augmentation n'est inférieure que de 10 à 20 p. 100 à celle fournie par le glucose. Une certaine croissance des bacilles tuberculeux, bien que médiocre, peut s'effectuer aux dépens du glycocolle, qui peut être utilisé par ces bacilles, non seulement en tant que source d'azote, mais aussi comme source de carbone. L'arginine, par contre, abaisse la respiration des bacilles ; tandis que la plupart des autres amino-acides n'exercent aucune influence appréciable en milieu de famine.

2° L'asparagine employée en excès (1 p. 100) et en présence d'une source carbonée dans le milieu de Sauton stimule légè-

rement les échanges respiratoires de ces bacilles. Le quotient respiratoire reste cependant le même (0,84). L'opinion, selon laquelle l'asparagine prise en excès sert d'aliment d'épargne de la source carbonée ne peut donc s'appliquer au carbone rejeté (CO_2) ; au contraire, à ce point de vue, un certain gaspillage de carbone semble possible. En outre, l'effet stimulant qu'un excès d'asparagine exerce sur l'oxydation du carbone ne semble pas être dû à l'enrichissement du milieu en azote, car lorsqu'on substitue partiellement le glycocolle à l'asparagine, tout en respectant le même taux global (1 p. 100) d'amino-acides, la respiration des bacilles tuberculeux reste pratiquement celle du milieu de Sauton normal.

3° Parmi d'autres substances azotées éprouvées en milieu de famine, on doit mentionner l'influence négative de la méthylacétamide, de l'acétanilide, de la triéthanolamine et de la cadavérine sur le Qo_2 . Par contre, l'intensité respiratoire de ces bacilles était triplée en présence de 1 p. 100 de lactate d'ammonium.

D'autre part, en comparant la consommation d'oxygène en milieu de famine additionné de 1 p. 100 d'albumine purifiée de sérum de bœuf à celle qui s'effectue, dans les mêmes conditions, aux dépens de 1 p. 100 de glucose, nous avons enregistré, en prenant pour zéro la respiration du témoin, une augmentation de Qo_2 de 21 p. 100 pour le glucose et de 33,5 p. 100 pour l'albumine.

4° Puisque les bacilles tuberculeux se trouvant dans le milieu de famine présentent une respiration qui, bien que décroissante, persiste pendant un certain temps malgré le jeûne, quel est donc ce métabolisme ?

Le quotient respiratoire en milieu de famine pur passe de 0,85 à 0,7 environ en dix jours de jeûne à 38°. Dans la mesure où le quotient respiratoire indique la nature du métabolisme, on peut donc en inférer que la consommation de la glycérine emportée du milieu initial s'achève pratiquement en une semaine pour H512 se trouvant au jeûne. Ensuite le quotient respiratoire, voisin de 0,7, indiquerait une consommation des graisses. Puisqu'il n'y a de graisses ni dans le milieu de Sauton initial, ni dans le milieu de famine, on doit admettre une certaine respiration aux dépens des lipides faisant partie des corps bacillaires mêmes. La richesse en lipides des bacilles tuberculeux expliquerait ainsi l'importance du phénomène, que nous appellerons « auto-nutrition », et qui permettrait aux bacilles, même en milieu liquide, de résister pendant des mois aux privations qu'ils subissent.

BIBLIOGRAPHIE

- BANCE (J.). *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1942, **31**, 71-125 ; 222-269.
- DREA (W. F.). *J. Bact.*, 1942, **44**, 149-161.
- FROUIN (A.) et GUILLAUMIE (M.). *Ces Annales*, 1928, **42**, 667-694.
- GOYAL (R. K.). *C. R. Soc. Biol.*, 1936, **121**, 1165-1167.
- LOEBEL (R. O.), SHORR (E.) et RICHARDSON (H. B.). *J. Bact.*, 1933, **26**, 139-167 ; 167-200.
- NAKAMURA (T.). *Tohoku J. Exp. Med.*, 1938, **34**, 231-245.

A PROPOS DE LA SÉROLOGIE DES *SALMONELLA*

par F. KAUFFMANN.

(Institut sérothérapique de l'Etat Danois.
Directeur : D^r J. OERSKOV.)

La grande extension qu'a prise, au cours des dernières années, le groupe des *Salmonella* a fait apparaître la nécessité de rendre plus clair, et, si possible, de simplifier le schéma de Kauffmann-White. Rappelons à ce propos que ce schéma servant au diagnostic des *Salmonella* par les antigènes, ne peut en aucune façon être considéré comme constituant une liste de tous les antigènes.

Les antigènes importants pour le diagnostic sont disposés en deux colonnes : antigène O et antigène H ; les antigènes H sont, à leur tour, divisés en deux parties, désignées par les termes de phase 1 et phase 2.

Dans la phase 1 sont comprises les phases « spécifiques » et « α » avec les antigènes H a , b , c , d ... La phase 2 comprend les phases « de groupe » (ou non-spécifiques) d'Andrewes, ainsi que les phases « β » de Kauffmann et Mitsui. Comme les antigènes H a , b , c , d ... se rencontrent aussi bien dans la phase spécifique — non spécifique que dans la phase α - β , la distinction entre ces deux sortes de phases ne repose que sur la différence sérologique avec la phase 2 : si la phase 1 est liée au complexe antigénique 1... (1,2 - 1,5 - 1,6 - 1,7), il s'agit de la phase spécifique-non spécifique ; si, au contraire, la phase 1 est liée au complexe antigénique e , n ... (e , n , x — e , n , z_{15}), on a affaire à la phase α - β . Ces deux sortes de phases se trouvent donc sur le même pied, puisqu'il n'existe pas de différence essentielle, que l'antigène b , par exemple, se rencontre avec la phase 1,2 ($b \leftarrow \rightarrow$ 1,2) ou avec la phase e , n , x ($b \leftarrow \rightarrow$ e , n , x). La flèche dans la formule exprime le changement de phase. Mais au point de vue diagnostique, il s'agit de deux choses tout à fait différentes puisqu'il faut posséder deux sérums différents (1,2 et e , n) pour déterminer ces types avec exactitude. Aussi semble-t-on fondé à continuer à employer les désignations « phase spécifique-non spécifique » dans le sens d'Andrewes, et « phase α - β » dans le sens de Kauffmann et Mitsui. Les termes phase 1 et phase 2 ont donc été choisis pour avoir une désignation commune, neutre, et simplifier le schéma des antigènes.

La grande importance pratique des phases β ressort du fait qu'aujourd'hui on connaît 36 types de la phase α - β , de sorte que la connaissance de cette phase est nécessaire.

Le changement de phase n'a lieu qu'en ce qui concerne l'antigène H et permet la division des types de *Salmonella* en deux groupes :

a) Types monophasiques, qui ne présentent qu'une phase.

b) Types diphasiques, qui peuvent présenter deux phases.

Dans le schéma diagnostique, on tient compte seulement des phases qui se rencontrent dans les circonstances naturelles, tandis que celles qui n'apparaissent, en règle générale, qu'en culture sur milieux artificiels sont négligées (même quand elles peuvent exceptionnellement se rencontrer dans les circonstances naturelles). Nous avons appelé ces phases « troisième phase » ou « phase induite » et nous n'en parlerons pas ici.

Les antigènes H des types de *Salmonella* ont une structure très complexe, mais celle-ci ne se traduit pas dans la formule simplifiée du schéma de l'antigène. Ainsi, tous les antigènes H de *Salmonella typhi* et d'autres types ne sont désignés que par « d », bien qu'il s'agisse ici d'un antigène H de structure complexe, qui n'est pas la même dans tous les types possédant l'antigène d. De même les phases 1,5 etc., ne sont pas toutes identiques, mais peuvent, par l'analyse de leurs nombreux antigènes partiels, être à leur tour subdivisées.

Dans le tableau des antigènes ci-joint, on a compris seulement les types qui étaient connus à la fin de l'année 1946. D'autre part, différents types en ont été retranchés, comme par exemple le type « S. new york » décrit par moi en 1944, et qui est identique à *S. javiana*. Comme l'antigène 3 a été exclu du tableau, on n'a pas considéré non plus *S. zagreb*, *S. oregon* et *S. pueris* comme des types en soi, mais on les a identifiés à *S. saint-paul*, *S. muenchen* et *S. newport*.

Un type mentionné par L. Olitzki ainsi que par R. Reitler et R. Menzel (VI, XIV, XXIV : r : 1,7) appartient à *S. bovis morbi-ficans*. Les types *S. cardiff*, *S. italiana* et *S. simsbury* n'ont pas été considérés comme des types en soi, mais identifiés à *S. thompson*, *S. panama* et *S. senftenberg*, Edwards et Bruner ayant montré qu'il s'agissait là de variantes de ces derniers types.

Remarquons encore que les deux types *ballerup* et *arizona* n'ont pas été compris dans le schéma des antigènes, puisqu'ils sont considérés comme souches-tests pour deux groupes existant réellement, le « groupe Ballerup » et le « groupe Arizona ». En ce qui concerne le groupe Arizona, nous renvoyons aux publications d'Edwards et collaborateurs. Il ressort de ces recherches qu'il s'agit d'un groupe de types qui présente la même structure que le groupe *Salmonella*, mais qui, au point de vue cultural, se distingue des cultures de *Salmonella* typiques.

Table de Kauffmann-White (1946)
pour le diagnostic des *Salmonelles* selon leur groupe antigénique.

	TYPE	ANTIGÈNE O	ANTIGÈNE H	
			Phase 1	Phase 2
Groupe A :				
1 . . .	<i>S. paratyphi A.</i>	I, II, XII	a	
Groupe B :				
2 . . .	<i>S. arechavaleta.</i>	IV, V, XII	a	1,7
3 . . .	<i>S. bispebjerg.</i>	I, IV, XII	a	e, n, x
4 . . .	<i>S. abortus equi.</i>	IV, XII		e, n, x
5 . . .	<i>S. paratyphi B.</i>	I, IV, V, XII	b	1,2
6 . . .	<i>S. abony.</i>	I, IV, V, XII	b	e, n, x
7 . . .	<i>S. abortus bovis.</i>	I, IV, XXVII, XII	b	e, n, x
8 . . .	<i>S. schleissheim.</i>	IV, XXVII, XII	b	
9 . . .	<i>S. abortus ovis.</i>	IV, XII	c	1,6
10 . . .	<i>S. attendorf.</i>	IV, XII	c	1,7
11 . . .	<i>S. stanley.</i>	IV, V, XII	d	1,2
12 . . .	<i>S. schwarzengrund.</i>	I, IV, XXVII, XII	d	1,7
13 . . .	<i>S. salinatis.</i>	IV, XII	d, e, h	d, e, n, z ₁₅
14 . . .	<i>S. saint paul.</i>	I, IV, V, XII	e, h	1,2
15 . . .	<i>S. reading.</i>	IV, XII	e, h	1,5
16 . . .	<i>S. kaposvar.</i>	IV, V, XII	e, (h)	1,5
17 . . .	<i>S. kaapstad.</i>	IV, XII	e, h	1,7
18 . . .	<i>S. chester.</i>	IV, V, XII	e, h	e, n, x
19 . . .	<i>S. san diego.</i>	IV, V, XII	e, h	e, n, z ₁₅
20 . . .	<i>S. derby.</i>	I, IV, XII	f, g	
21 . . .	<i>S. essen.</i>	IV, XII	g, m	
22 . . .	<i>S. californica.</i>	IV, XII	g, m, t	
23 . . .	<i>S. buisapest.</i>	I, IV, XII	g, t	
24 . . .	<i>S. typhi murium.</i>	I, IV, V, XII	i	1,2
25 . . .	<i>S. bredeney.</i>	I, IV, XXVII, XII	l, v	1,7
26 . . .	<i>S. brandenburg.</i>	IV, XII	l, v	e, n, z ₁₅
27 . . .	<i>S. heidelberg.</i>	IV, V, XII	r	1,2
28 . . .	<i>S. coeln.</i>	IV, V, XII	y	1,2
Groupe C :				
29 . . .	<i>S. oslo.</i>	VI, VII	a	e, n, x
30 . . .	<i>S. georgia.</i>	VI, VII	b	e, n z ₁₅
31 . . .	<i>S. paratyphi C.</i>	VI, VII, Vi	c	1,5
32 . . .	<i>S. cholerae suis.</i>	VI, VII	c	1,5
33 . . .	<i>S. typhi suis.</i>	VI, VII	c	1,5

() = Présence d'une partie de l'antigène seulement.

	TYPE	ANTIGÈNE O	ANTIGÈNE H	
			Phase 1	Phase 2
34 . . .	<i>S. amersfoort.</i>	VI, VII	<i>d</i>	<i>e, n, x</i>
35 . . .	<i>S. braenderup.</i>	VI, VII	<i>e, h</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
36 . . .	<i>S. montevideo.</i>	VI, VII	<i>g, m, s</i>	
37 . . .	<i>S. thompson.</i>	VI, VII	<i>k</i>	1,5
38 . . .	<i>S. daytona.</i>	VI, VII	<i>k</i>	1,6
39 . . .	<i>S. concord.</i>	VI, VII	<i>l, v</i>	1,2
40 . . .	<i>S. potsdam.</i>	VI, VII	<i>l, v</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
41 . . .	<i>S. oranienburg.</i>	VI, VII	<i>m, t</i>	
42 . . .	<i>S. virchow.</i>	VI, VII	<i>r</i>	1,2
43 . . .	<i>S. infantis.</i>	VI, VII	<i>r</i>	1,5
44 . . .	<i>S. papuana.</i>	VI, VII	<i>r</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
45 . . .	<i>S. richmond.</i>	VI, VII	<i>y</i>	1,2
46 . . .	<i>S. bar illy.</i>	VI, VII	<i>y</i>	1,5
47 . . .	<i>S. hartford.</i>	VI, VII	<i>y</i>	<i>e, n, x</i>
48 . . .	<i>S. mikawasima.</i>	VI, VII	<i>y</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
49 . . .	<i>S. tennessee.</i>	VI, VII	<i>z₂₀</i>	
50 . . .	<i>S. narashino.</i>	VI, VIII	<i>a</i>	<i>e, n, x</i>
51 . . .	<i>S. gatuni.</i>	VI, VIII	<i>b</i>	<i>e, n, x</i>
52 . . .	<i>S. muenchen.</i>	VI, VIII	<i>d</i>	1,2
53 . . .	<i>S. manhattan.</i>	VI, VIII	<i>d</i>	1,5
54 . . .	<i>S. newport.</i>	VI, VIII	<i>e, h</i>	1,2
55 . . .	<i>S. kalibus.</i>	VI, VIII	<i>e, h</i>	1,5
56 . . .	<i>S. bonariensis.</i>	VI, VIII	<i>i</i>	<i>e, n, x</i>
57 . . .	<i>S. litchfield.</i>	VI, VIII	<i>l, v</i>	1,2
58 . . .	<i>S. bovis morbificans.</i>	VI, VIII	<i>r</i>	1,5
59 . . .	<i>S. duesseldorf.</i>	VI, VIII	<i>z₄, z₂₄</i>	
60 . . .	<i>S. tallahassee.</i>	VI, VIII	<i>z₄, z₃₂</i>	
61 . . .	<i>S. glostrup.</i>	VI, VIII	<i>z₁₀</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
62 . . .	<i>S. virginia.</i>	(VIII)	<i>d</i>	<i>z₈</i>
63 . . .	<i>S. kentucky.</i>	(VIII), XX	<i>i</i>	<i>z₆</i>
64 . . .	<i>S. amherstiana.</i>	(VIII)	<i>l, (v)</i>	1,6
Groupe D :				
65 . . .	<i>S. sendai.</i>	I, IX, XII	<i>a</i>	1,5
66 . . .	<i>S. miami.</i>	I, IX, XII	<i>a</i>	1,5
67 . . .	<i>S. loma-linda.</i>	IX, XII	<i>a</i>	<i>e, n</i>
68 . . .	<i>S. durban.</i>	I, IX, XII	<i>a</i>	<i>e, n, z₁₅</i>

	TYPE	ANTIGÈNE O	ANTIGÈNE H	
			Phase 1	Phase 2
69 . . .	<i>S. onarimon.</i>	I, IX, XII	<i>h</i>	1, 2
70 . . .	<i>S. typhi.</i>	IX, XII, Vi	<i>d</i>	
71 . . .	<i>S. eastbourne.</i>	I, IX, XII	<i>e. h</i>	1, 5
72 . . .	<i>S. berta.</i>	IX, XII	<i>f, g, l</i>	
73 . . .	<i>S. enteritidis.</i>	I, IX, XII	<i>g m</i>	
74 . . .	<i>S. blegdam.</i>	IX, XII	<i>g, m, q</i>	
75 . . .	<i>S. pensacola.</i>	IX, XII	<i>g, m, t</i>	
76 . . .	<i>S. dublin.</i>	I, IX, XII	<i>g, p</i>	
77 . . .	<i>S. rostock.</i>	I, IX, XII	<i>g, p, u</i>	
78 . . .	<i>S. moscow.</i>	IX, XII	<i>g, q</i>	
79 . . .	<i>S. claibornei.</i>	I, IX, XII	<i>k</i>	1, 5
80 . . .	<i>S. panama.</i>	I, IX, XII	<i>l, v</i>	1, 5
81 . . .	<i>S. goettingen.</i>	IX, XII	<i>l v,</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
82 . . .	<i>S. dar es salaam.</i>	I, IX, XII	<i>l, w</i>	<i>e. n</i>
83 . . .	<i>S. napoli.</i>	I, IX, XII	<i>l, z₁₃</i>	<i>e, n, x</i>
84 . . .	<i>S. javiana.</i>	I, IX, XII	<i>l, z₂₈</i>	1, 5
85 . . .	<i>S. canastel.</i>	IX, XII	<i>z₂₀</i>	1, 5
86 . . .	<i>S. gallinarum.</i>	I, IX, XII		
Groupe E :				
87 . . .	<i>S. shangani.</i>	III, X	<i>d</i>	1, 5
88 . . .	<i>S. vejle.</i>	III, X	<i>e, h</i>	1, 2
89 . . .	<i>S. muenster.</i>	III, X	<i>e, h</i>	1, 5
90 . . .	<i>S. anatum.</i>	III, X	<i>e, h</i>	1, 6
91 . . .	<i>S. nyborg.</i>	III, X	<i>e, h</i>	1, 7
92 . . .	<i>S. meleagridis.</i>	III, X	<i>e, h</i>	<i>l, w</i>
93 . . .	<i>S. zanzibar.</i>	III, X	<i>k</i>	1, 5
94 . . .	<i>S. london.</i>	III, X	<i>l. v</i>	1, 6
95 . . .	<i>S. give.</i>	III, X	<i>l, v</i>	1, 7
96 . . .	<i>S. uganda.</i>	III, X	<i>l, z₁₃</i>	1, 5
97 . . .	<i>S. weltevreden.</i>	III, X	<i>r</i>	<i>z₆</i>
98 . . .	<i>S. amager.</i>	III, X	<i>y</i>	1, 2
99 . . .	<i>S. orion.</i>	III, X	<i>y</i>	1, 5
100 . . .	<i>S. lexington.</i>	III, X	<i>z₁₀</i>	1, 5
101 . . .	<i>S. newington.</i>	III, XV	<i>e, h</i>	1, 6
102 . . .	<i>S. selandia.</i>	III, XV	<i>e, h</i>	1, 7
103 . . .	<i>S. new brunswick.</i>	III, XV	<i>l, v</i>	1, 7
104 . . .	<i>S. illinois</i>	(III), (XV)	<i>z₁₀</i>	1, 5

	TYPE	ANTIGÈNE O	ANTIGÈNE H	
			Phase 1	Phase 2
105 . . .	<i>S. niloese.</i>	I, III, XIX	<i>d</i>	<i>z</i> ₀
106 . . .	<i>S. senftenberg.</i>	I, III, XIX	<i>g, s, t</i>	<i>z</i> ₂₇
107 . . .	<i>S. taksony.</i>	I, III, XIX	<i>i</i>	<i>z</i> ₆
Groupe F :				
108 . . .	<i>S. marseille.</i>	XI	<i>a</i>	1,5
109 . . .	<i>S. luciana.</i>	XI	<i>a</i>	<i>e, n, z</i> ₁₃
110 . . .	<i>S. aberdeen.</i>	XI	<i>i</i>	1,2
111 . . .	<i>S. veneziana.</i>	XI	<i>i</i>	<i>e, n</i>
112 . . .	<i>S. pretoria.</i>	XI	<i>k</i>	1,2
113 . . .	<i>S. senegal.</i>	XI	<i>r</i>	1,5
114 . . .	<i>S. rubislaw.</i>	XI	<i>r</i>	<i>e, n</i>
115 . . .	<i>S. soll.</i>	XI	<i>y</i>	1,5
Groupe G :				
116 . . .	<i>S. mississippi.</i>	I, XIII, XXIII	<i>b</i>	1,5
117 . . .	<i>S. grumpensis.</i>	XIII, XXIII	<i>d</i>	1,7
118 . . .	<i>S. wichita.</i>	I, XIII, XXIII	<i>d</i>	
119 . . .	<i>S. havana.</i>	I, XIII, XXIII	<i>f, g</i>	
120 . . .	<i>S. borbeck.</i>	XIII, XXII	<i>l, v</i>	1,6
121 . . .	<i>S. worthington.</i>	I, XIII, XXIII	<i>l, w</i>	<i>z</i>
122 . . .	<i>S. poona.</i>	XIII, XXII	<i>z</i>	1,6
123 . . .	<i>S. cubana.</i>	I, XIII, XXIII	<i>z</i> ₂₀	
Groupe H :				
124 . . .	<i>S. heves.</i>	VI, XIV, XXIV	<i>d</i>	1,5
125 . . .	<i>S. florida.</i>	(I), VI, XIV, XXV	<i>d</i>	1,7
126 . . .	<i>S. onderstepoort.</i>	(I), VI, XIV, XXV	<i>e, (h)</i>	1,5
127 . . .	<i>S. carrau.</i>	VI, XIV, XXIV	<i>y</i>	1,7
128 . . .	<i>S. madelia.</i>	(I), VI, XIV, XXV	<i>y</i>	1,7
129 . . .	<i>S. sundsvall.</i>	(I), VI, XIV, XXV	<i>z</i>	<i>e, n, x</i>
Groupe I :				
130 . . .	<i>S. hvitittingfoss.</i>	XVI	<i>b</i>	<i>e, n, x</i>
131 . . .	<i>S. gaminara.</i>	XVI	<i>d</i>	1,7
132 . . .	<i>S. szentes.</i>	XVI	<i>k</i>	1,2
133 . . .	<i>S. orientalis.</i>	XVI	<i>k</i>	<i>e, n, z</i> ₁₃

	TYPE	ANTIGÈNE O	ANTIGÈNE H	
			Phase 1	Phase 2
<i>Autres groupes :</i>				
134 . . .	<i>S. kirkee.</i>	XVII	<i>b</i>	1,2
135 . . .	<i>S. cerro.</i>	XVIII	<i>z₄, z₁₃</i>	
136 . . .	<i>S. minnesota.</i>	XXI	<i>b</i>	<i>e, n, x</i>
137 . . .	<i>S. pomona.</i>	XXVIII	<i>y</i>	1,7
138 . . .	<i>S. tel-aviv.</i>	XXVIII	<i>y</i>	<i>e, n, z₁₅</i>
139 . . .	<i>S. urbana.</i>	XXX	<i>b</i>	<i>e, n, x</i>
140 . . .	<i>S. adelaïde.</i>	XXXV	<i>f, g</i>	
141 . . .	<i>S. inverness.</i>	XXXVIII	<i>k</i>	1,6
142 . . .	<i>S. champaign.</i>	XXXIX	<i>k</i>	1,5

La nouvelle disposition du schéma des antigènes, c'est-à-dire la disposition des types à l'intérieur du groupe des *Salmonella*, n'a été effectuée que pour des motifs extérieurs, afin d'obtenir une meilleure vue d'ensemble du nombre toujours croissant de ces types. C'est pourquoi, à l'intérieur de chaque groupe O, les types sont disposés par ordre alphabétique d'après les antigènes H de la phase 1 : *a, b, c...* Dans les cas dans lesquels on rencontre plusieurs types avec la même phase 1, mais avec différentes phases 2, ces types sont disposés de façon que les types 1,2 - 1,5 - 1,6 - 1,7 soient placés d'abord, puis les types avec *e, n, x-e, n, z₁₅*, etc.

En outre, les types qui possèdent l'antigène (VIII) sont compris dans le groupe C, afin d'éviter la création d'un groupe spécial. Le signe [] (qui indique que les antigènes en question peuvent manquer) a été négligé pour simplifier, car pratiquement il s'agit surtout des antigènes I, V et Vi. D'autres antigènes, par exemple *i* et 1,2 peuvent aussi manquer sans qu'on l'ait jusqu'ici indiqué dans le tableau. Pour la même raison, les points ... placés derrière certains antigènes doivent disparaître, parce que la plupart des formules sont abrégées et parce que ces formules sont suffisamment connues sous cette forme.

RÉSUMÉ.

Un schéma des antigènes du groupe des *Salmonella*, destiné à servir au diagnostic (schéma de Kauffmann-White), est exposé, dans lequel les différents types du groupe O sont disposés d'une façon plus claire qu'ils ne l'étaient jusqu'ici. Quelques explications à propos de ce schéma, qui est simplifié dans un but pratique, sont également données.

ETUDES D'ÉPIDÉMIOLOGIE STATISTIQUE DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

III. — ANALYSE CHRONOLOGIQUE (PROGRESSION DE LA MALADIE)

par JEAN CUZIN et DANIEL SCHWARTZ (*).

(S. E. I. T. A. Service des Recherches biologiques, Paris.)

La répartition dans le temps des cas de mosaïque apparaissant sur une plantation de tabac est évidemment essentielle à connaître pour qui veut préciser le déterminisme de l'infection.

La continuelle augmentation du nombre de malades au cours de la saison, depuis le repiquage jusqu'à la cueillette, est un phénomène absolument général, que les pathologistes, aussi bien que les agronomes, ont maintes fois signalé : Wolf [17], après une vaste enquête portant de 1928 à 1930, sur 229 champs de la Caroline du Nord, au total sur plus de 400.000 pieds, Thung [14] en 1932, à Klaten, Johnson [8] en 1937, après dix années d'observations sur un grand nombre de plantations, concluent à *une croissance régulière du taux de malades depuis le repiquage jusqu'à la cueillette*.

Ce phénomène peut être interprété de deux façons :

1° On peut d'abord supposer que la totalité des malades est le fait d'une contamination unique, produite, par exemple, au moment du repiquage sur un sol infectieux. Si ce mode d'inoculation, souvent réfuté, semble, à l'heure actuelle incontesté (Johnson et Ogden [9], Wolf [17], Cuzin et Schwartz [5]), l'hypothèse que ces inoculations précoces rendent compte des cas apparus pendant tout l'été n'a guère été retenue, car elle fait intervenir un temps de latence moyen, et une dispersion de ce temps de latence, incomparablement plus grands que les données correspondantes d'une inoculation expérimentale.

2° On peut au contraire supposer que la totalité des cas est le fait d'une succession de contaminations échelonnées pendant toute la durée de la culture.

En plus des déterminations précoces (utilisation de plant contaminé, repiquage sur sol infectieux), qui constitueraient un pre-

(*) Société Française de Microbiologie, séance du 8 avril 1948.

nier lot de malades, de nombreuses causes d'inoculation plus tardives ont été suggérées et discutées. Celles-ci font appel :

Soit à une contagion à partir du premier lot de malades, par contact de plant à plant (Johnson [8]), par l'intermédiaire d'insectes vecteurs (Hoggan [7]), d'agents atmosphériques (Wolf [47]), ou de façons culturales (Tollenaar [45], Wolf [47], Johnson [8], Valleau et Diachun [46]).

Soit à l'introduction de virus extérieur à la population, provenant, soit du sol à la faveur des façons culturales ou des intempéries (Johnson [8]), soit de plantes étrangères par l'intermédiaire d'insectes vecteurs (Hoggan [7]), soit de tabac manufacturé par l'intermédiaire du personnel.

Les divers modes d'inoculation ainsi invoqués ont tous été reconnus comme possibles, mais il ne s'ensuit pas qu'ils interviennent effectivement dans la pratique, et le problème exige encore une enquête approfondie, comportant, en particulier, des *expérimentations sur champ accompagnées de fréquents relevés de malades.*

La contribution que nous apportons ici à cette enquête comprend les résultats d'observations et d'expérimentations sur champ effectuées, de 1944 à 1947, à l'institut des Tabacs de Bergeac, sur 24.000 pieds en tout (les pieds, au nombre de 4 à 8.000, selon les années, étant examinés, en moyenne, tous les deux jours).

Les champs étaient complantés avec une variété industrielle de tabac, *Nicotiana tabacum* L. var. P₁₀ B, génotype isolé et suivi à Bergerac. Un certain nombre de façons culturales ont été supprimées en vue de simplifier le problème (épamprément, écimage, ébourgeonnage, récolte de feuilles) et les opérations restantes (sarclages) ont été retardées au maximum : *ainsi s'est présentée dans des conditions particulièrement simples, la période des maladies précoces, qui sont à la fois les plus nocives et les plus difficiles à interpréter.*

Le virus introduit, en cas d'inoculation, a toujours été une même souche banale du virus de la mosaïque NV₁ (protéine-virus purifiée par centrifugation fractionnée, provenant de culture-stock de multiplication d'une souche initiale).

L'enquête a porté sur la progression de la maladie dans 3 cas distincts :

Premier cas : Progression de la maladie dans une population de plants inoculés en période de croissance normale (inoculation dite « normale »).

Deuxième cas : Progression de la maladie dans une population de plants inoculés le jour du repiquage, dans des conditions imitant le mieux possible la pénétration du virus dans une plantation sur sol infecté (inoculation dite « spéciale »).

Troisième cas : Progression de la maladie dans une population

de plants non inoculés, repiqués normalement sur sol contaminé (malades dits « spontanés »).

I. — Etude du premier cas (inoculation « normale »).

A. — DÉFINITION PRÉCISE DE L'INOCULATION « NORMALE ».

Nous disons que l'inoculation est « normale » quand elle porte sur un sujet en voie de croissance normale — c'est-à-dire pas trop près de la maturité et pas immédiatement après le repiquage — et sur une feuille du sujet qui soit elle-même en état de croissance (feuille non adulte).

B. — ANALYSE CHRONOLOGIQUE DANS UNE EXPÉRIENCE-TYPE D'INOCULATION « NORMALE ».

Le tableau I ci-dessous donne le résultat des relevés journaliers :

TABLEAU I. — Résultats d'une inoculation « normale » sur 38 pieds effectuée le 23 juillet 1947 = jour 0.

	JOUR								
	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Nombre total de malades. . .	3	24	31	35	35	36	37	37	38

Les courbes de la figure 1 représentent les variations, en fonction du temps, du nombre total de malades (courbe 1) et de leur vitesse d'apparition (courbe 2, résultant, par dérivation, de la courbe 1). Les nombres de malades ont été évalués en pourcentage du nombre de pieds inoculés (forme « réduite » des courbes, permettant la comparaison entre populations).

Dans ces conditions, la courbe 2 indique la distribution des fréquences des temps de latence, c'est-à-dire, pratiquement, la loi de probabilité des temps de latence.

On peut préciser la progression de la maladie par les caractéristiques suivantes, relatives, d'une part, au *taux de malades*, et, d'autre part, à la *répartition des temps de latence*.

1° TAUX DE MALADES. — Tous les pieds inoculés finissent par être malades.

Précisons la portée de cette règle absolue :

En ce qui concerne le *sujet Tabac*, vérification faite, de 1944 à

1947, sur plus de 5.000 pieds, elle signifie qu'on n'a jamais rencontré, chez le génotype utilisé, d'individu réfractaire après inoculation massive.

En ce qui concerne l'*agent pathogène*, la règle énoncée signifie que la concentration utilisée C est suffisante, avec notre méthode d'inoculation, pour permettre l'entrée d'un élément infectieux au moins dans la feuille inoculée. Précisons que la concentration C

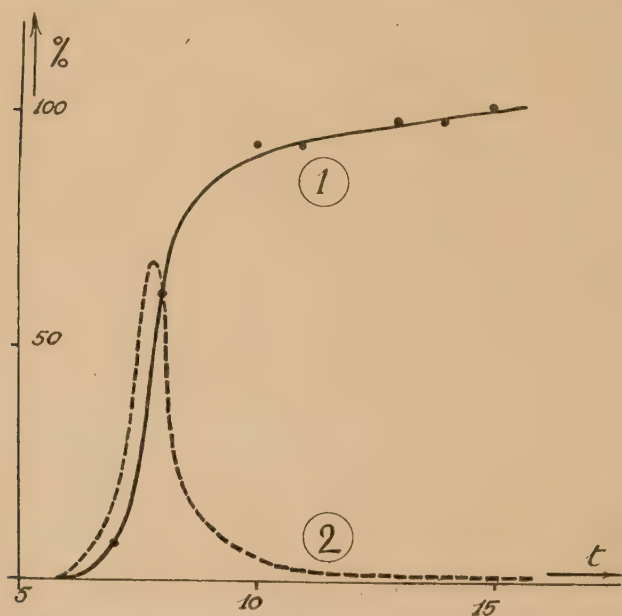


FIG. 4. — Progression de la maladie après inoculation « normale ». *Abscisses* : temps en jours (jour 0 = jour de l'inoculation). *Ordonnées* : pourcentage de malades (courbe 1) ou vitesse d'apparition des malades en pourcentage par jour (courbe 2) dans la population des pieds inoculés.

vérifie très largement cette propriété, car il en est encore de même avec une concentration dix fois moindre. Il faut diluer plus de dix fois la suspension utilisée pour atteindre le domaine où la probabilité d'entrée d'une unité infectieuse est inférieure à 1 et où, par conséquent, le taux de pieds malades varie avec la concentration, selon une loi plus ou moins voisine de la loi de Poisson.

2° RÉPARTITION DES TEMPS DE LATENCE. — Les mosaïques apparaissent à des temps échelonnés, dans le cas présent, entre sept et quinze jours. La progression de la maladie dure ainsi une semaine environ. La courbe qui la représente a une allure sigmoïde.

Pour permettre des comparaisons, il est utile de définir les données précédentes à l'aide de pourcentages. Nous caractériserons donc conventionnellement le début et la fin de la « progression » par les dates où sont atteints respectivement 5 p. 100 et 95 p. 100 des pieds inoculés, soit ici (d'après la courbe 1) :

Début de la « progression »	Jour 7.
Fin de la « progression »	Jour 12.
Durée de la « progression »	12-7 = 5.

La loi de probabilité des temps de latence est représentée par une courbe en cloche légèrement dissymétrique (1) [courbe 2].

Cette courbe est très pointue, et on peut y déterminer avec précision les caractéristiques suivantes :

a) *Le temps de latence le plus probable* λp , abscisse du sommet de la courbe, bien déterminé graphiquement :

$$\lambda p = 8 \text{ jours.}$$

Ce temps est, vu la dissymétrie de la courbe, légèrement différent du *temps de latence moyen*, dont la valeur calculée est :

$$\lambda m = 8,2 \text{ jours.}$$

b) La précision de ce temps de latence λp . Avec les conventions usuelles de la loi normale, on peut écrire :

$$\lambda p = 8 \pm 2 \sigma, \text{ soit ici } 8 \pm 0,6.$$

Ces limites assignent à λp un intervalle étroit de variation et lorsque, dans deux populations analogues à celle-ci, les temps de latence diffèrent de plus de $0,6 \sqrt{2}$, c'est-à-dire 0,8 jour, on est en droit de rechercher l'influence d'un facteur systématique.

c) L'ordonnée du temps de latence λp , dont la valeur est ici :

$$N \lambda p = 56 \text{ p. 100.}$$

On doit entendre par là que la probabilité de λp est de 56 p. 100, ou encore que la vitesse instantanée d'apparition des malades le jour λp est de 56 p. 100 de la population par jour.

II. — Etude du deuxième cas (inoculation « spéciale »).

A. — DÉFINITION PRÉCISE DE L'INOCULATION « SPÉCIALE ».

Nous avons essayé, dans cette inoculation, de reproduire le mieux possible les conditions que nous supposons réalisées dans

(1) On peut atténuer cette dissymétrie en utilisant d'autres variables que le temps t . BRYAN [3], à propos de tumeurs provoquées par carbures cancérogènes, emploie $1/t$. Dans une étude en cours, nous mettons à épreuve l'emploi de la variable $\log t$.

le repiquage sur sol infecté. L'inoculation « spéciale » est donc caractérisée :

a) Par une clause de *moment* : elle a été effectuée *immédiatement après le repiquage*.

b) Par une clause de *niveau* : il est admis, à l'heure actuelle, que l'inoculation par les racines est pratiquement sans effet (Mullvania [12], J. Johnson [8]), et que seules sont efficaces les inoculations portant sur une partie verte. Nous avons donc considéré comme portes d'entrées probables les feuilles basses du plant, situées au contact du sol, et c'est sur une telle feuille que chaque pied a reçu l'inoculation « spéciale ».

B. — ANALYSE CHRONOLOGIQUE DANS L'EXPÉRIENCE-TYPE D'INOCULATION « SPÉCIALE ».

L'expérience-type a été réalisée en 1947, dans une parcelle de 1.200 pieds, disposés en 20 lignes de 60 pieds, dont :

a) 12 lignes, randomisées parmi les 20, ont reçu l'inoculation « spéciale » (lignes *Inoculées*) ;

b) 8 lignes, laissées indemnes, constituent les *Témoins*.

L'emploi des lignes témoins et de la randomisation devait permettre de constater l'influence de l'inoculation, en se basant uniquement sur des différences significatives. La probabilité de malades parmi les lignes témoins n'est, en effet, aucunement exclue, du seul fait que le terrain d'expérience a, au cours des années antérieures, porté des cultures de tabac.

La progression de la maladie, représentée par les courbes 1 et 2 de la figure 2, présente les caractéristiques suivantes :

1° **TAUX DE MALADES.** — Avec la concentration C de référence utilisée, tous les pieds inoculés ne deviennent pas malades : même en fin de culture, 26 p. 100 seulement des pieds sont mosaïqués.

2° **RÉPARTITION DES TEMPS DE LATENCE.** — On distingue nettement (fig. 2), dans la « progression de la maladie », trois vagues successives bien mises en évidence par les 3 maxima de la courbe 2.

C. — INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE L'INOCULATION « SPÉCIALE ».

Quatre points doivent être expliqués parmi les observations énoncées ci-dessus : d'une part, l'existence de pieds demeurés sains malgré l'inoculation massive, d'autre part, la présence de chacune des trois « vagues ».

1° **TAUX DE PIEDS RESTÉS SAINS.** — Il est remarquable que, même en fin de culture, malgré l'inoculation initiale et toutes autres contaminations éventuelles, on trouve seulement 26 p. 100 de pieds

malades ; nous avons signalé, en effet, qu'en cas d'inoculation « normale » avec la même suspension infectieuse de concentration C, ce fait ne s'est *jamais* produit.

Nous croyons que cette différence peut être expliquée par les deux particularités suivantes (non exclusives) :

a) La concentration en protéine-virus n'intervient pas de façon

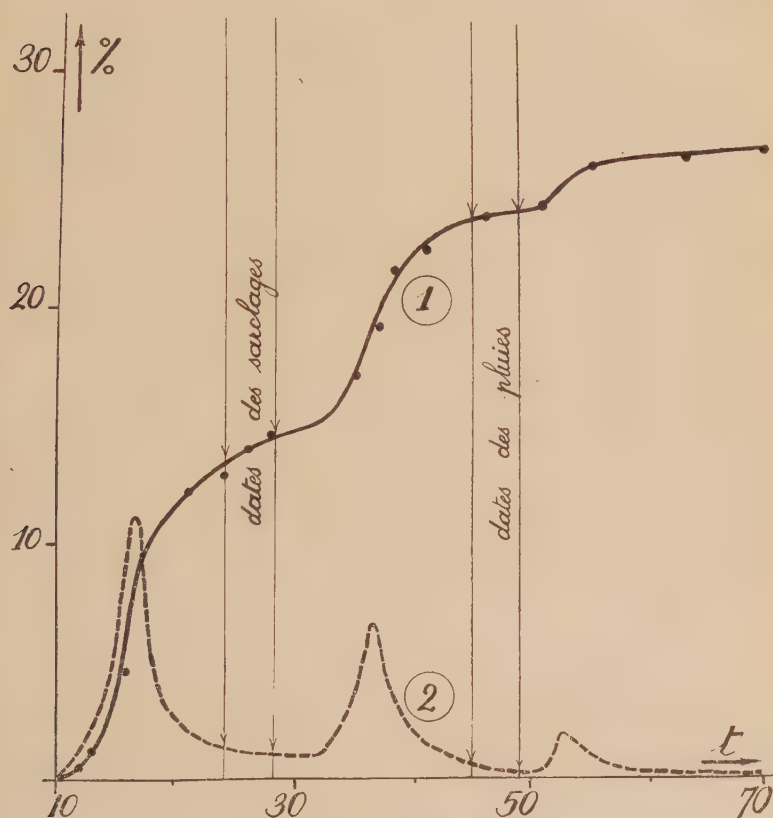


FIG. 2. — Progression de la maladie après inoculation « spéciale ». Abscisses : temps en jours (jour 0 = jour de la plantation et de l'inoculation). Ordonnées : pourcentage de malades (courbe 1) ou vitesse d'apparition des malades en pourcentage par jour (courbe 2) dans la population des pieds inoculés.

absolue, elle ne joue qu'un rôle relatif à un mode d'inoculation donné. Dans le cas des inoculations sur *Nicotiana glutinosa*, telles qu'on les pratique dans la titration par numération de lésions focales, il a été nettement prouvé que la probabilité d'entrée de l'agent infectieux ne dépend pas seulement de la concentration de la suspension : Kalmus et Kassanis [10] ont récemment insisté

sur l'effet systématique d'abrasifs utilisés pendant la friction, et estiment, par exemple, que l'emploi de *Carborundum tamis 400* équivaut à une multiplication par 100 de la concentration en virus. Samuel, Best et Bald [13], Best et Samuel [2] ont signalé de même l'influence du pH de la suspension.

Enfin, et c'est ici ce qui nous importe le plus, l'état de la feuille inoculée est un facteur essentiel. Bald [1] a montré, par exemple, et des études en cours nous le confirment de façon très nette, qu'une même suspension produit des nombres de lésions différents suivant l'âge de la feuille. Or, il n'est pas douteux que, dans notre inoculation « spéciale » les feuilles basses du plant repiqué étaient dans un état particulier (turgescence très faible), et nous pensons que cet état équivaut à une diminution de la concentration utilisée.

Cette hypothèse nous semble confirmée par une étude de la variation du taux de malades avec la concentration. En effet, nous avons réalisé des inoculations « spéciales » avec diverses concentrations (à raison de 120 pieds par concentration). Les pourcentages de pieds malades en fin de culture ont été les suivants :

	CONCENTRATION			
	1/100 C	1/10 C	C	10 C
Taux de malades p. 100	4	15	20	49

Or, nous avons dit plus haut que dans le cas d'une inoculation « normale » avec la concentration C, ou la concentration C/10, on obtient 100 p. 100 de malades, mais qu'avec des concentrations plus faibles on atteint le domaine de validité de la loi de Poisson ; tout se passe donc comme si le mode d'inoculation « spéciale » équivalait, par rapport au mode d'inoculation « normale », à une diminution de concentration.

b) La deuxième particularité que nous invoquons à propos de l'inoculation « spéciale » porte, non plus sur la probabilité de pénétration du virus dans la feuille inoculée, mais sur sa probabilité de pénétration dans le restant de l'organisme ; en effet, les feuilles basses du plant, la plupart du temps, se dessèchent et tombent. Si cette amputation spontanée se produit avant que l'agent pathogène ait contaminé le restant de l'organisme, on peut penser que le plant restera sain.

Nous avons obtenu confirmation de cette hypothèse par l'expérimentation suivante : amputation d'une feuille, après inoculation sur sa partie apicale, *n* jour après l'inoculation.

D'après Kunkel [11], le virus resterait localisé pendant quarante-quatre heures environ dans la feuille inoculée. Pour un délai inoculation-amputation inférieur à deux jours, on doit donc obtenir normalement un certain pourcentage de pieds sains. Nous avons constaté que ce délai peut être largement dépassé : ainsi, dans une expérience où le temps de latence des témoins était de onze jours, l'amputation de la feuille inoculée $n =$ quatre jours et demi après l'inoculation a donné 70 p. 100 de pieds sains.

En outre, pour des valeurs croissantes de n , nous avons obtenu des pourcentages progressivement croissants de pieds malades. Si, dans le cas de l'inoculation « spéciale », il s'agit bien de phénomènes analogues, la probabilité de maladie doit dépendre de la vitesse de chute des feuilles basses après le repiquage, c'est-à-dire, en fin de compte, de la vitesse de reprise du pied.

Pour confirmer l'hypothèse faite, nous avons donc recherché une corrélation entre la probabilité de maladie et le développement d'un pied dans la période suivant le repiquage. Ce développement a été évalué par un comptage de feuilles, et a donné lieu à une *note*, dont nous avons exposé ailleurs [6], la définition exacte, en montrant qu'elle est objective et précise lorsqu'elle porte, non sur un plant, mais sur une collection de plants.

Si alors on compare, pour les pieds mosaïqués au cours de l'été d'une part, et d'autre part, pour les pieds restés sains, la « note » qui leur avait été attribuée au moment de la reprise, on trouve une différence nettement significative :

Note moyenne des pieds mosaïqués.	1,90 \pm 0,08
Note moyenne des pieds sains	1,54 \pm 0,08

Plus précisément d'ailleurs, si on cherche le taux de malades parmi les pieds de note donnée, on trouve les chiffres ci-dessous :

	NOTE DES PIEDS				
	0	1	2	3	> 3
Pourcentage de malades . . .	17	27	34	45	67

Il est hors de doute, d'après ces résultats, qu'il existe une corrélation positive entre la vitesse de croissance d'un pied et sa probabilité de manifester la mosaïque à la suite de l'inoculation « spéciale ». Bien entendu, cette corrélation n'implique pas nécessairement l'existence d'une relation causale entre les deux quantités, ni que cette relation existe dans le sens où nous l'avons supposé. Toutefois, l'hypothèse que le développement du pied

influe sur sa probabilité de maladie nous semble actuellement confirmée par un réseau de convergences (et notamment par l'influence, nettement constatée et signalée [5] d'un épandage hivernal de sulfate d'ammoniaque, qui augmente à la fois la vitesse de croissance et le taux de malades). Nous adoptons donc cette hypothèse de travail.

2° ETUDE DE LA PREMIÈRE « VAGUE » DE MALADES (jour 0 à jour 31). — a) Pendant cette période, la courbe 2 (fig. 2) indique que la progression de la maladie est conforme, dans son allure générale, aux résultats d'une inoculation « normale » unique. Par ailleurs, la comparaison des taux de malades réalisés pendant cette période par les lignes inoculées d'une part, et témoins, d'autre part, est tout à fait significative :

Les taux de malades le jour 31 sont en effet :

Dans les lignes ayant reçu l'inoculation « spéciale » . . .	45 p. 100
Dans les lignes témoins (pas d'inoculation)	1 p. 100

Il n'est donc pas douteux que, pour les malades de la première vague, la cause directe est l'inoculation « spéciale ».

b) Si l'allure générale de la courbe 2 est la même que dans le cas d'une inoculation « normale » (courbe en cloche dissymétrique), il n'en est pas de même des valeurs numériques de ses caractéristiques :

La progression de la maladie a un début plus tardif (jour 13, contre jour 7), une fin surtout plus tardive (jour 31, contre jour 12), au total une durée plus longue (dix-neuf jours au lieu de cinq).

D'autre part, le temps de latence le plus probable est ici :

$$\lambda p = 17 \text{ jours}$$

qui sort nettement de l'intervalle huit-onze jours des temps de latence rencontrés dans nos diverses inoculations « normales ». Ces différences nous semblent dues à la faible vitesse de croissance du pied en général, et plus particulièrement des feuilles basses. Il existe, en effet, d'autres cas, bien connus, où vont de pair la faible croissance d'une feuille et un temps de latence élevé ; c'est ainsi, par exemple, que sur des feuilles quasi-adultes, Valteau et Diachun [16] ont obtenu des temps de latence allant jusqu'à un mois.

c) Certains seulement des pieds inoculés (15 p. 100) manifestent la maladie pendant la première période, tandis que les autres restent sains. Etant donné que, pour tous ces pieds, l'inoculation a été effectuée dans des conditions comparables, la cause de l'infection doit donc être recherchée dans les qualités du sujet. Ce point est confirmé par le fait qu'on peut mettre en évidence, pour les malades de la première vague comme nous l'avons fait pour la totalité des malades, une corrélation positive entre « note de

reprise » et probabilité de maladie. C'est ce qui ressort dès l'examen des notes moyennes :

« Note » moyenne des malades de la première vague .	$1,87 \pm 0,18$
« Note » moyenne des pieds restés sains pendant la première vague	$1,61 \pm 0,08$

et que précise la corrélation ci-dessous :

	NOTE DES PIEDS				
	0	1	2	3	> 3
Pourcentage de malades . . .	12	15	18	27	33

Ainsi se trouve suggéré, pour les malades de la première vague, le rôle important que jouent, indépendamment de l'agent pathogène, les facteurs de « terrain » ou de « prédisposition » du sujet dans la détermination de l'infection.

3° ETUDE DE LA DEUXIÈME VAGUE DE MALADES (JOUR 32 A JOUR 50).

— a) *Comparaison des taux de mosaïques apparues pendant la deuxième vague dans les lignes inoculées et témoins.* — Ces pourcentages rapportés à l'ensemble des pieds sains le jour 31 (c'est-à-dire déduction faite des malades de la première vague) sont :

Lignes inoculées	11	p. 100
Lignes témoins.	1,5	p. 100

La différence se révèle hautement significative. L'inoculation « spéciale » est donc la cause première de la deuxième vague de malades, mais cette cause peut être *indirecte* (hypothèse d'une contagion par lignes, à partir des malades de la première vague).

b) *Influence des sarclages.* — Nous ne mettons pas en doute cette influence. En effet, toutes les opérations culturales ont été différées à dessein dans les premières semaines qui ont suivi le repiquage, pour permettre de suivre la progression de la maladie. C'est seulement lorsque celle-ci touchait à sa fin que les sarclages ont été effectués, toutes autres conditions d'environnement restant les mêmes. Or, quelques jours plus tard, la deuxième vague de malades est apparue. Il ne nous semble pas qu'il puisse s'agir d'une coïncidence.

c) *Répartition topographique des malades de la deuxième vague.* — Nous avons procédé à une analyse de la répartition topographique des malades de la deuxième vague, selon des techniques exposées précédemment [4].

L'examen statistique a montré que ces pieds sont répartis au hasard dans chaque ligne, sans aucune relation de vicinité avec les malades de la première vague : par exemple, l'ensemble des malades des deux vagues est distribué en *malades isolés et malades groupés* selon des proportions conformes à une répartition de hasard.

d) *Relation entre « note de reprise » et probabilité de maladie pour les malades de la deuxième vague.*

Une telle relation a déjà été mise en évidence pour les malades de la première vague. Elle est manifeste encore pour la deuxième vague, comme le montre l'examen des « notes » moyennes :

« Note » moyenne des malades de la deuxième vague.	$2,00 \pm 0,18$
« Note » moyenne des pieds restés sains pendant la deuxième période.	$1,57 \pm 0,08$

et la corrélation ci-dessous :

	NOTE DES PIEDS				
	0	1	2	3	> 3
Pourcentage de malades . . .	0	8	14	13	30

e) *Hypothèses concernant l'origine de la deuxième vague de malades.* — D'après ce qui a été signalé en a) et b), la cause première de cette vague est l'inoculation « spéciale », et l'actualisation est consécutive aux sarclages, cause seconde. Mais l'inoculation peut avoir agi de façon *indirecte* (contagion) ou *directe*.

α) Dans le premier cas, la deuxième vague serait le résultat d'une *contagion* propagée à partir des malades de la première vague. Cette contagion serait nécessairement restreinte à la direction des *lignes* (puisque'elle n'a pas affecté les lignes témoins), mais cette propriété est tout-à-fait compatible avec une transmission par les sarclages, qui sont également des opérations dirigées selon les lignes. Le temps de latence serait de huit à douze jours, ce qui correspond à la valeur donnée pour l'inoculation normale. Cette hypothèse est conforme à l'opinion couramment exprimée dans la littérature épiphytologique, au sujet de l'influence contaminante des sarclages.

Toutefois, les résultats signalés en c) et d) ne semblent pas s'expliquer clairement par cette hypothèse : nous avons montré, en effet, que la mosaïque, au cours de la deuxième vague, se manifeste selon les lois du hasard en ce qui concerne la répartition topographique, mais en relation systématique avec la croissance

des individus. Or, on attendrait plutôt d'une contagion qu'elle frappe, au contraire, selon des règles topographiques (en particulier de proximité avec le foyer contaminant), sans relation spéciale avec la croissance des sujets.

β) Dans le deuxième cas (action *directe*), il faut admettre que certains pieds, bien que contaminés depuis l'inoculation « spéciale » seraient restés indemnes jusqu'au moment où le sarclage interviendrait pour actualiser la mosaïque (le processus de cette actualisation restant à déterminer : augmentation de la vitesse de croissance, traumatisme, etc...).

Cette hypothèse est compatible avec les résultats c) et d) : la contamination des pieds à la suite de l'inoculation « spéciale » dépendrait, pour la deuxième vague comme pour la première, de l'autotomisation plus ou moins lente des feuilles basses, ce qui rendrait compte aussi bien de la répartition topographique aléatoire de ces pieds que de l'influence de leur vitesse de reprise.

Nous avons cherché une vérification de cette hypothèse dans les expériences déjà citées, d'amputation après inoculation ; nous avons effectivement obtenu, dans certains cas, une augmentation significative du temps de latence. L'examen systématique de ces cas est en cours.

4° ETUDE DE LA TROISIÈME « VAGUE » DE MALADES (JOUR 50 à JOUR 70). — Pendant cette période, les taux de malades apparus dans les lignes inoculées (3 p. 100) et témoins (1,5 p. 100) ne sont pas significativement différents.

Les pluies orageuses des jours 45 et 49, les premières de cet été particulièrement sec, semblent avoir eu une influence déterminante sur l'apparition de la vague : en effet, elles représentent apparemment le seul événement nouveau survenu parmi les conditions d'environnement.

Toutefois, nous ne sommes pas en mesure de préciser le mode d'action exact de ces pluies ; le nombre des malades de la troisième vague est trop petit pour que des corrélations puissent être efficacement recherchées. A première vue, on ne décèle aucune systématique dans la distribution des malades, pas plus dans leur topographie qu'en relation avec leur vitesse de croissance.

III. — Etude du troisième cas (malades « spontanés »).

A. — DÉFINITION DU CAS ÉTUDIÉ.

L'enquête porte dans ce cas sur des populations de plants non soumis à inoculation systématique, mais dans lesquelles l'agent pathogène a été néanmoins introduit par un processus contrôlé : il s'agit d'une contamination par le sol, réalisée en principe par la même souche de virus que dans les inoculations « normale »

et « spéciale » étudiées ci-dessus. Nous avons indiqué [5] qu'une telle contamination peut être obtenue chaque année par inoculation systématique et massive des pieds de la récolte précédente, le virus étant capable de persister dans le sol pendant l'hiver, en gardant son pouvoir infectieux (sous forme d'ailleurs non explicitement connue).

L'enquête a porté sur un champ de 4.000 pieds contigu à celui de l'inoculation « spéciale » et qui a reçu aux mêmes dates les mêmes opérations culturales (les conditions particulières consistent donc, ici encore, en absence d'épamprément, buttage, écimage, retard apporté au sarclage, etc...).

1° ANALYSE CHRONOLOGIQUE. — La progression de la maladie est représentée par les courbes 1 et 2 de la figure 3. Elle présente les caractéristiques suivantes :

a) *Taux de malades.* — Le taux de pieds malades en fin de saison est faible : à peine 2,5 p. 100.

b) *Répartition des temps de latence.* — On distingue nettement sur les courbes 1 et 2 de la figure 3, l'existence de trois vagues consécutives. Les trois périodes correspondantes sont rigoureusement les mêmes que dans le cas de l'inoculation « spéciale ».

2° INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS. — a) *Allure générale de la maladie.* — La progression de la maladie est tout à fait comparable à celle que nous avons signalée pour l'inoculation « spéciale ». Or, dans ce cas, nous avons montré que la quasi-totalité des cas de mosaïque (première et deuxième vagues certainement, troisième vague peut-être), était la conséquence directe ou indirecte de l'inoculation initiale. Le parallélisme des effets nous invitant à admettre l'analogie des causes, *il n'est pas utile ici, pour expliquer l'accroissement du nombre de malades au cours de l'été, d'invoquer l'introduction de virus extérieur à la population postérieurement au repiquage (en provenance soit du sol, par frottement des feuilles basses, soit de plantes étrangères, par l'intermédiaire d'insectes vecteurs, soit de tabac manufacturé, par l'intermédiaire du personnel.*

b) *Taux de malades.* — Le taux de malades constaté en fin de saison (2,4 p. 100) est particulièrement faible, en comparaison des taux de malades réalisés au cours des trois années précédentes. Mais rappelons que, dans le cas de l'inoculation « spéciale », où l'agent pathogène était introduit de façon massive, le taux de pieds malades n'était que de 25 p. 100. Si donc, dans le cas des « spontanés », le mode d'inoculation est analogue à celui de l'inoculation « spéciale », on doit penser que l'agent pathogène s'est présenté sous forme beaucoup moins concentrée.

En ce qui concerne, d'autre part, la détermination des pieds malades, nous avons signalé, dans le cas de l'inoculation « spé-

cial », l'existence d'une corrélation positive entre la « note » du plant et sa probabilité de maladie ; une telle corrélation a pu être mise en évidence également pour le cas des spontanés, comme l'indique le tableau II (relatif à une moitié du champ examiné).

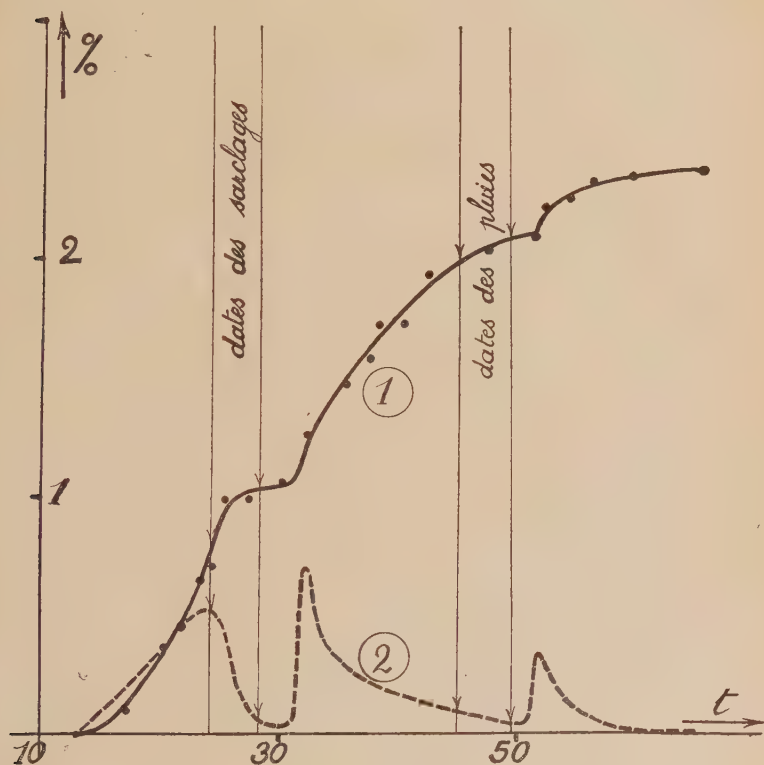


FIG. 3. — Progression de la maladie dans une population de « spontanés ». *Abscisses* : temps en jours (jour 0 = jour de la plantation). *Ordonnées* : pourcentage de malades (courbe 1) ou vitesse d'apparition des malades en pourcentage par jour (courbe 2) dans la population totale.

TABLEAU II. — Malades « spontanés ».

Relation entre « note de reprise » et probabilité de maladie.

	NOTE				NOTE MOYENNE des pieds malades	NOTE MOYENNE des pieds sains
	0	1	2	> 2		
Taux de pieds malades .	2	4	5	6	$1,86 \pm 0,09$	$1,64 \pm 0,1$

c) *Etude de la première vague.* — L'analogie avec le cas de l'inoculation « spéciale », permet de dire que la première vague est formée de malades contaminés le jour du repiquage : *celui-ci peut donc être responsable des cas de mosaïque se manifestant pendant tout le premier mois de la culture*, bien que ces délais dépassent largement ceux d'une inoculation « normale ».

Ainsi se trouve confirmée sur le plan expérimental, l'opinion de Johnson ([8] p. 243) d'après laquelle l'inoculation produite le jour du repiquage sur un sol contaminé, peut avoir un temps de latence allant jusqu'à trois ou quatre semaines.

d) *Etude de la deuxième vague.* — L'analogie avec le cas de l'inoculation « spéciale » nous fait dire que cette vague est la conséquence, directe ou indirecte, de la contamination au repiquage (cause première), le sarclage (cause seconde) intervenant comme facteur, soit de contagion, soit d'actualisation.

e) *Etude de la troisième vague.* — Même conclusion que dans le cas de l'inoculation « spéciale » (effet des pluies, par suite d'un processus restant à préciser).

Résumé et conclusions.

L'apparition des cas de mosaïque, pendant la durée de la culture, sur une plantation de tabac dont le sol est contaminé (malades *spontanés*), a été étudiée dans le sens d'une analyse chronologique, en comparaison avec des inoculations systématiques effectuées, soit en période de croissance normale du sujet (inoculation *normale*), soit immédiatement après repiquage sur une feuille basse du plant (inoculation *spéciale*).

1° La comparaison des inoculations « normale » et « spéciale » a mis en évidence des différences importantes entre leurs effets, aussi bien a) pour le *taux de malades*, que b) pour la *répartition des temps de latence*.

a) En utilisant une suspension de protéine-virus suffisamment concentrée pour produire régulièrement 100 p. 100 de malades en inoculation « normale », nous n'avons obtenu que 26 p. 100 de malades après inoculation « spéciale ». Cette différence peut être attribuée à une diminution de la probabilité d'entrée de l'agent pathogène due à l'état particulier des feuilles inoculées au moment du repiquage (car on augmente le taux de malades, en utilisant une solution plus concentrée). Ainsi est mis en évidence le rôle primordial que joue, dans des conditions d'inoculation données, l'état de réceptivité du sujet (terrain infectieux).

Nous avons également suggéré une confirmation du rôle du terrain dans l'infection, en montrant l'existence d'une corrélation positive entre le développement d'un pied mesuré peu après le repiquage, et la probabilité pour ce pied de manifester la mosaïque pendant la durée de la culture, et en interprétant cette corrélation

dans un sens causal (la détermination des pieds malades ayant lieu, sans doute, en relation avec leur vitesse de croissance).

b) Alors que dans l'inoculation « normale » l'apparition des maladies s'échelonne sur une période relativement courte (90 p. 100 des maladies en cinq jours), après une incubation également courte (huit à onze jours pour le temps de latence le plus probable), la parcelle soumise à inoculation « spéciale » a présenté des maladies pendant toute la durée de la culture ; les mosaïques y sont apparues en trois vagues successives ; les deux dernières de ces vagues sont imputables à des sarclages et des pluies, qui ont pu agir comme facteurs soit d'inoculation par contagion, soit seulement d'actualisation. La première vague, qui est certainement le résultat direct de l'inoculation, couvre une période plus longue que ne fait une inoculation « normale » (90 p. 100 des maladies en vingt jours) et correspond à une incubation plus longue (temps de latence le plus probable : dix-sept jours).

2° La comparaison entre le cas des « spontanés » et celui de l'inoculation « spéciale » a mis en évidence une analogie profonde entre ces deux cas (existence des trois vagues successives correspondant aux mêmes périodes). Nous en avons conclu que la progression de la maladie, dans les conditions de culture normale sur sol contaminé, pouvait s'expliquer en majeure partie par l'inoculation produite au moment du repiquage, sans faire appel à l'hypothèse d'un apport de virus extérieur à la population, postérieurement au repiquage, provenant soit du sol (inoculation par le fait des sarclages ou des pluies), soit d'hôtes étrangers (inoculation par insectes vecteurs), soit de tabac manufacturé (inoculation par le personnel). En effet, cette inoculation initiale s'est révélée directement responsable de maladies apparues pendant un mois (le temps de latence le plus probable de la première vague étant de vingt-quatre jours), et directement ou indirectement responsable de maladies apparues pendant les cinquante premiers jours au moins. Il en résulte, au point de vue pratique, que pour lutter efficacement contre l'envahissement d'une plantation par la mosaïque, il faut diminuer au maximum la probabilité de contamination par le sol *au moment du repiquage*.

Indépendamment des recherches qui, dans ce sens, visent à diminuer le niveau d'infection du réservoir-sol, nous avons montré qu'on peut modifier la probabilité de maladie par l'état du plant lui-même. En effet, la prédisposition plus ou moins grande du sujet, que nous avons mise en évidence dans le cas de l'inoculation « spéciale » peut intervenir aussi dans le cas des « spontanés » : il existe une corrélation positive entre le développement d'un pied mesuré peu après le repiquage et sa probabilité d'être mosaïqué pendant la durée de la culture.

Nous pensons qu'en définitive la vitesse de croissance des plants est un facteur essentiel dans la progression de la maladie car,

indépendamment de son effet sur la *probabilité de maladie*, cette vitesse de croissance semble influencer sur le *temps de latence*. Nous suggérons ici une hypothèse que rend vraisemblable un faisceau d'observations convergentes : d'une part, en effet, nous avons signalé le temps de latence élevé des inoculations effectuées au moment du repiquage, qui est aussi l'époque d'une croissance anormalement faible ; d'autre part, un peu avant l'époque de la maturité, temps de latence élevé et croissance faible vont encore de pair. Au contraire, en période de pleine croissance, l'inoculation qui est alors « normale » n'est suivie que d'une incubation de courte durée. Ainsi apparaît, à travers trois époques particulières, un parallélisme qui se poursuit pendant toute la durée de la culture : en effet, entre le repiquage et la cueillette, la variation du nombre des malades en fonction du temps est, en première approximation, représentée par une courbe d'allure sigmoïde, qui rappelle précisément la loi de croissance des plants pendant le même intervalle de temps ; cette analogie se poursuit jusque dans le détail, puisque nous avons décelé, en deuxième approximation, des accidents dans la courbe de progression de la maladie, et que nous avons pu les attribuer à des sarclages et à des pluies, événements susceptibles de produire également des accidents dans la courbe de croissance des plants. Enfin il n'est pas jusqu'à la distribution des temps de latence dans une population inoculée, qui ne rappelle, par sa représentation en courbe en cloche *dissymétrique (dans le sens du mode inférieur à la moyenne)*, la distribution des tailles dans un échantillon d'une population homogène.

Des études en cours nous permettront de préciser le degré de signification de cette analogie et de rechercher si la vitesse d'apparition des symptômes à la suite d'une inoculation peut être rangée au nombre des paramètres caractéristiques d'un individu (et susceptibles, par exemple, d'obéir aux lois de la croissance relative).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BALD (J. G.). *Ann. Appl. Biol.*, 1937, **24**, 33.
- [2] BEST (R. J.) et SAMUEL (G.). *Ann. Appl. Biol.*, 1936, **23**, 509.
- [3] BRYAN (W. R.). *J. Nat. Cancer Inst.*, U. S. N., 1946, **6**, 737.
- [4] CUZIN (J.), RÉNIER (A.) et SCHWARTZ (D.). *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 1579 et errata, 225.
- [5] CUZIN (J.) et SCHWARTZ (D.). *Ces Annales*, 1947, **73**, 1106.
- [6] CUZIN (J.) et SCHWARTZ (D.). *Ann. Agron.*, 1948, **1** (sous presse).
- [7] HOGGAN (I. A.). *Phytopath.*, 1929, **19**, 109 et *Phytopath.*, 1931, **21**, 199.
- [8] JOHNSON (J.), *J. Agr. Research*, 1937, **54**, 239.
- [9] JOHNSON (J.) et OGDEN (W. V.). *Wis. Agr. Exp. Sta. Res. Bul.*, 1929, **95**, 1.

- [10] KALMUS (H.) et KASSANIS (B.). *Ann. Appl. Biol.*, 1945, **32**, 230.
- [11] KUNKEL (L. O.). *Phytopath.*, 1939, **8**, 684.
- [12] MULVANIA (M.). *J. Bact.*, 1930, **19**, 23.
- [13] SAMUEL (G.), BEST (R. J.) et BALD (G.). *Ann. Appl. Biol.*, 1935, **22**, 508.
- [14] THUNG (T. H.). *Proefstation voor Vorstenlandsche Tabak*, 1932, **72**, 42.
- [15] TOLLENAAR (D.). *Proefstation voor Vorstenlandsche Tabak*, 1931, **71**.
- [16] VALLEAU (W. D.) et DIACHUN (S.). *J. Agr. Research*, 1941, **62**, 249.
- [17] WOLF (F. A.). *Tobacco diseases and decays*, Duke University Press.
Durham N. C., 1935, *passim*.

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

(*Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15°.*)

Séance du 13 mai 1948.

Présidence de M. GASTINEL.

NÉCROLOGIE

YERVANTE MANOUÉLIAN

(1872-1948)

Un nouveau deuil vient de frapper l'Institut Pasteur, en la personne de notre collègue Manouélian, l'un des travailleurs les plus estimés de la Maison. Sa perte sera cruellement ressentie aussi par notre Société, dont Manouélian, qui faisait partie de notre commission de titulariat, était l'un des membres les plus actifs.

De nationalité arménienne, Yervante Manouélian est né à Constantinople, le 29 juillet 1872. Il a fait ses études à l'Ecole Centrale Arménienne de cette ville, puis à la Faculté de Médecine de Paris, dont il fut lauréat en 1900. Il est entré à l'Institut Pasteur en 1902, et ne l'a jamais quitté jusqu'à sa mort, fournissant sans relâche, au cours de ces quarante-six ans, un labeur opiniâtre et fécond.

Elève des professeurs Mathias Duval et Brissaud, dont il avait été l'assistant, Manouélian était un histologiste d'origine, spécialisé dans l'étude de la structure fine du système nerveux. On sait quelle perfection technique exige une telle spécialité ; Manouélian avait approfondi les méthodes d'étude du système nerveux, les avait perfectionnées, en avait inventé de nouvelles ; ainsi avait-il acquis en ce domaine une habileté technique incomparable, qui confère au moindre de ses travaux une valeur documentaire sans égale. Parmi ses publications relatives à la cytologie pure du système nerveux, citons ses mémoires sur les origines du nerf optique, sur le plexus cardiaque et l'innervation de l'aorte (avec des considérations nouvelles sur la pathogénie de l'angine de poitrine), sur l'existence de centres nerveux dans les organes.

Entré à l'Institut Pasteur, Manouélian était tout désigné pour approfondir l'étude des maladies à virus neurotropes, de la rage, en particulier, à laquelle il devait consacrer une grande partie de son activité. On

sait que le virus rabique, comme les autres virus neurotropes, est localisé dans les centres nerveux, cerveau, bulbe, moelle épinière. Mais nombre de viscères et de sécrétions, entre autres les glandes salivaires et la salive, se montrent aussi virulents. Manouélian a montré que cette virulence n'est pas due au tissu propre de ces glandes, mais aux cellules nerveuses parasitées qu'il a réussi à y mettre en évidence. Des cellules nerveuses virulentes se trouvent aussi incluses dans le tissu de la langue, à quelques millièmes de millimètres au-dessous de la surface. On s'explique aisément par là que la rage se transmette par morsure. Ces découvertes ont amené Manouélian à étudier une autre maladie transmissible par le même mécanisme, le sodoku, spirochétose due à la morsure du rat. Ici la salive ne contient pas le spirochète, agent de la maladie. Comment donc la morsure peut-elle le transmettre à l'homme ? Manouélian a montré que dans le sodoku comme dans la rage, le parasite se trouve dans la langue ; non, il est vrai, au sein des cellules nerveuses, mais au niveau des fibres musculaires et conjonctives. Parmi ces fibres il en est qui arrivent à quelques millièmes de millimètres de la surface de la langue ; on conçoit qu'au moment de la morsure, à la faveur d'une minime éraillure de la muqueuse, le parasite puisse être inoculé dans les tissus de la victime.

Manouélian s'est livré aussi à une étude approfondie des corps de Negri, inclusions intracellulaires de la rage. Grâce aux perfectionnements qu'il a apportés à la méthode de Mann, il a mis en évidence, dans les cellules nerveuses rabiques, des corpuscules beaucoup plus petits, qui manquent chez les sujets sains et qu'il interprète comme les parasites de la rage. Les corps de Negri résulteraient de l'agglutination de ces parasites suivie de dégénérescence.

Dans le problème de la syphilis aussi, Manouélian a apporté des notions tout à fait nouvelles, d'une grande importance théorique et pratique. Rompu par ses recherches neurologiques aux techniques d'impregnation à l'argent, il était particulièrement apte à mettre en évidence le spirochète de la syphilis, même sous ses formes les plus méconnaissables. Il a reconnu sa présence, en grande abondance, dans le cordon ombilical des fœtus hérédo-syphilitiques. Constatation de grand intérêt pratique, car il s'agit de lésions apparemment fermées, mais en réalité ouvertes, les parasites s'insinuant et se développant dans les tissus sains et atteignant ainsi leur surface externe. On sait combien de médecins, de chirurgiens, d'accoucheurs et de sages-femmes se contaminent dans l'exercice de leur profession, grâce à ces lésions syphilitiques prétendues fermées et considérées à tort comme dépourvues de contagiosité.

Une autre découverte importante, en syphiligraphie, est celle du granule spirochétogène, élément de très petite taille, pourvu d'un filament et produit par le spirochète de forme normale, dont il représente, à côté de la multiplication par division transversale, l'un des modes de reproduction. Le granule spirochétogène, en effet, se transforme par accroissement en éléments présentant un ou deux tours de spires, et finalement en spirochète typique. M. Séguin a fait des constatations analogues pour les spirochètes de la cavité buccale.

Il est impossible, dans une brève notice, de donner un aperçu tant soit peu complet d'une œuvre aussi considérable que celle de Manouélian. Signalons, entre autres, ses recherches sur la destruction des

cellules nerveuses par phagocytose, sur l'athérome aortique, sur l'anévrisme syphilitique de l'aorte, sur la cytologie du tétanos humain. Cette œuvre si complexe et si variée s'impose par sa rigueur impeccable, par la probité avec laquelle elle est conduite, par les perspectives nouvelles qu'elle ouvre dans les sciences biologiques et médicales. Elle est de celles dont on peut affirmer qu'elles resteront. Manouélian l'a accomplie dans l'enthousiasme. Il éprouvait parfois le besoin de se détendre en confiant à ses amis ses découvertes inédites, ses projets d'avenir, ses idées toujours profondément originales. Il le faisait avec une façon toute méridionale, qui donnait à ses propos une saveur qui n'était qu'à lui. On le voyait aussi se livrer à des diatribes indignées contre ceux qui avaient de la recherche scientifique une conception moins élevée que la sienne. Mais toujours il se retirait sur une note optimiste. On peut dire qu'il est mort sur la brèche, ayant travaillé sans défaillance jusqu'à son dernier jour. Sa retraite, qu'il avait prise en 1941, n'avait été pour lui qu'une formalité, qui avait péniblement accru les difficultés de sa vie matérielle, mais sans affecter en rien son activité productrice.

Comme beaucoup de morphologistes, accoutumés à une contemplation approfondie des merveilles de la nature, Manouélian avait une âme d'artiste et de poète. Il l'exprimait volontiers par des poèmes d'une haute inspiration, récemment rassemblés en un recueil qui va paraître incessamment. Parmi ces poésies, plusieurs lui avaient été inspirées par les malheurs de la France, sa patrie d'adoption, et par sa foi inébranlable dans la résurrection de notre pays. Hélas ! il n'aura pas eu la joie de voir achevé ce volume, dont la publication lui tenait à cœur.

Tel est le collègue éminent, l'ami cher à beaucoup d'entre nous, que nous venons de perdre. Par son esprit créateur, par la rigueur de ses méthodes, par sa haute probité scientifique, par son ardeur juvénile et par sa foi patriotique, il doit rester pour nous tous un exemple. Sa disparition laissera parmi nous un grand vide, mais il restera vivant dans nos cœurs.

J. MAGROU.

PRÉSENTATION D'OUVRAGE

M. A.-R. Prévot : J'ai l'honneur de présenter à la Société française de Microbiologie la deuxième édition de mon *Manuel de classification et de détermination des Bactéries anaérobies* (1). Cette nouvelle édition est augmentée de 67 pages, ce qui montre que ce chapitre de la bactériologie a donné lieu à de nombreux travaux depuis quelques années. Dans l'introduction, j'ai fait figurer les grandes lignes de la classification générale des Bactéries, ce qui permet de mieux situer les anaérobies par rapport aux autres bactéries. Le nombre des bactéries classées a été augmenté de 51 espèces dont 38 nouvelles ; chaque espèce a été complétée par la description de nouveaux caractères, en particulier les caractères biochimiques : ainsi ce livre pourra permettre aux bactériologistes de déterminer plus facilement ces microbes dont l'étude est si difficile.

(1) Masson, édit., Paris.

COMMUNICATIONS

**SUR UN ULTRAVIRUS ISOLÉ
DANS UN FOYER D'ICTÈRE ÉPIDÉMIQUE
SÉVISSANT EN OUBANGUI**

par A. PELLISSIER et R. LUMARET.

L'un de nous (Lumaret), a eu l'occasion d'observer en 1946-1947, une épidémie d'ictères infectieux dans la région de Bossangoa, au nord-ouest de Bangui, en Oubangui (A. E. F.). Cette épidémie, d'allure bénigne, causa cependant 6 décès sur 188 cas reconnus.

La maladie se présente avec les deux périodes préictérique et ictérique et évolue en deux à trois semaines, rappelant ainsi d'assez près l'hépatite épidémique.

Facteurs épidémiologiques. — L'ictère épidémique est une maladie de l'adulte jeune. Il est exceptionnel au-dessous de cinq ans (un seul cas observé) et n'a pas été observé au-dessus de cinquante ans. L'âge moyen des malades oscille entre vingt et trente ans.

Le sexe n'a aucune influence, hommes et femmes sont également atteints.

Seuls les indigènes ont été touchés, mais on ne peut voir là une influence de la race, le nombre des Européens étant infime par rapport à celui des indigènes.

Nous avons isolé à l'Institut Pasteur de Brazzaville, un ultravirus, dont 3 souches à partir du sang de malades ictériques et 1 souche à partir du sang d'un cas de myocardite fébrile.

Les conditions de l'isolement montrent que nous avons affaire à un virus très résistant. En effet, le sang du malade a été recueilli sur citrate de soude et mis en ampoules. Les ampoules ont été conservées au frigidaire pendant un temps variable (de un à trois jours), puis expédiées par la route sur Bangui et de là par avion à Brazzaville. Le sang est donc resté au moins deux jours à la température ordinaire.

Les hémocultures pratiquées avec le sang des malades ont toujours été négatives. Pensant au début avoir affaire à une spirochétose ictéro-hémorragique atypique, tous nos animaux de passage ont subi des examens de sang en goutte épaisse et après triple centrifugation, des examens de frottis de rate et de foie, des examens d'urine après centrifugation, et nous n'avons jamais pu mettre en évidence des spirochètes ou d'autres parasites. Les hémocultures et les cultures d'organes chez nos animaux n'ont de même rien donné.

Par ailleurs, nous avons envoyé à M^{me} Kolochine-Erber, à l'Institut Pasteur de Paris, les sérums de 5 malades convalescents pour sérodiagnostic de Martin et Pettit. Il n'a pas été trouvé trace d'agglutination pour les différentes souches de leptospires utilisées. Nous remercions vivement M^{me} Kolochine-Erber d'avoir bien voulu se charger de ces examens. Les produits pathologiques ont été filtrés d'abord sur Seitz,

puis sur bougie Chamberland L_3 et leur virulence a été normale : nous avons donc bien affaire à un ultravirus.

Les souches ont été isolées sur cobaye, inoculé par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale. L'animal réagit par une forte courbe fébrile, survenant sans période d'incubation, à 40°-41°. Un amaigrissement rapide et important est constaté et l'animal meurt régulièrement entre le neuvième et le douzième jour, après avoir présenté de l'hypothermie pendant quelques heures. Le cobaye n'a jamais présenté d'ictère et les lésions constatées à l'autopsie sont de l'ordre congestif pour la rate et les reins. Le foie est le plus souvent décoloré. Microscopiquement, ce dernier organe présente de la clarification des cellules hépatiques et quelquefois de la dégénérescence grasseuse dans les zones péricentrolobulaires. Les poumons ne présentent aucune lésion. Il n'y a pas d'hypertrophie des ganglions lymphatiques, ni des glandes surrénales.

Des manifestations cliniques et les lésions d'autopsie permettent de différencier la maladie expérimentale du cobaye des diverses maladies à virus observées chez ces animaux. D'ailleurs, des cobayes de même origine nous servent journellement pour toutes sortes d'inoculations et nous n'observons pas de telles manifestations par ailleurs.

Le virus est pathogène pour le lapin, le singe (cercopithèque et chimpanzé). Par contre, la souris et le rat sont réfractaires, quelle que soit la voie d'inoculation, au virus normal.

Après inoculation de sang dans l'encéphale de cobaye, nous avons pu obtenir une adaptation au cerveau de souris et avoir ainsi une souche neurotrophe, dont le comportement est pour l'instant remarquablement fixe. Les souris inoculées dans l'encéphale meurent le sixième-septième jour, après avoir présenté des signes nerveux à type convulsions, contractions et excitation. Les animaux meurent au cours d'une crise convulsive et ne présentent jamais de paralysies. Ces manifestations nerveuses ne surviennent que quelques heures avant la mort. Tous les contrôles bactériologiques et parasitologiques se sont montrés négatifs. Au quatrième passage, le virus était actif au millionième.

L'étude de ce virus se poursuit à l'Institut Pasteur de Brazzaville et fera l'objet de communications ultérieures.

(Institut Pasteur de Brazzaville.)

CERTAINS SINGES PEUVENT-ILS FAIRE UNE ENCÉPHALITE POST-VACCINALE ?

par A. PELLISSIER, E. TRINQUIER et H. ARNOULT.

On sait que de nombreux essais ont été pratiqués en vue d'obtenir chez l'animal une encéphalite post-vaccinale, par infection cutanée, sous-cutanée, cornéenne, testiculaire, intraveineuse ou intra-artérielle. Ces différentes voies d'inoculation, même associées à divers artifices pour diminuer la résistance du cerveau, n'ont jamais donné de résultat positif certain.

Le manque de lapins nous a amenés à pratiquer le titrage de la virulence de notre vaccin antivariolique sur le singe. La technique employée est le procédé classique de Calmette et Guérin, par inoculation cutanée après rasage de la région dorsale de l'animal. Chaque lot de vaccin est contrôlé aux dilutions de 1/1.000 et 1/10.000. Notre virus vaccinal est remarquablement fixe et nous obtenons constamment une éruption confluyente avec la dilution à 1/1.000. Les résultats obtenus avec les diverses espèces de singes utilisés ont été tout à fait comparables à ceux obtenus chez le lapin. Notons cependant que le même animal nous sert à titrer simultanément deux lots de vaccin et que de ce fait une grande surface cutanée est remplie de pustules.

Le virus vaccinal que nous utilisons depuis plusieurs années est entretenu sur génisse, et sur plusieurs millions de vaccinations pratiquées, tant chez l'Européen que chez l'indigène, il ne nous a jamais été signalé de cas humain d'encéphalite post-vaccinale.

Comme avec le lapin, l'utilisation de certains singes ne donne lieu à aucun signe pathologique particulier. Il en est ainsi avec le chimpanzé et une variété de cercopithèque : *Cercopithecus l'haesti*. Au contraire, et jusqu'à présent, 3 espèces de singes inférieurs :

Cercopithecus nictitans (le pain à cacheter).

Cercopithecus cephus (le museau bleu).

Papio species (petit cynocéphale local, non identifié), ont présenté, avec une constance remarquable, des phénomènes d'encéphalite, survenant entre le dixième et le quarante-cinquième jour après l'inoculation (le plus souvent entre le dixième et le quinzième) et entraînant la mort très rapide de l'animal.

L'évolution cutanée de la vaccine est absolument normale et se poursuit dans les mêmes délais que chez le lapin. Puis subitement, l'animal, qui était resté très vif malgré une élévation notable de sa température, est trouvé prostré dans un coin de sa cage, ne réagissant plus aux excitations extérieures. Les signes nerveux constatés sont, dans la grande majorité des cas, des signes de parésie, puis de paralysie des membres, les membres postérieurs étant les premiers atteints. Nous avons noté également la paralysie vésicale et intestinale. Plus rarement, l'animal présente des soubresauts musculaires et dans un cas nous avons constaté des mouvements athétosiques. Très rapidement, la température baisse et l'animal meurt en hypothermie. La maladie a duré un ou deux jours.

Le manque de temps et de personnel n'a pas permis jusqu'à présent de pousser l'étude plus avant. Deux essais de mise en évidence du virus vaccinal dans l'encéphale, l'un par scarification cutanée chez le chimpanzé, l'autre par inoculation intratesticulaire chez le cobaye, sont restés sans résultat. Cependant, deux examens anatomo-pathologiques, effectués par M. le professeur agrégé Laffargue, chaire de M. le professeur J.-M. Montpellier, à Alger, que nous sommes heureux de remercier ici, présentent un réel intérêt.

Singe 104, Papio species. — Evolution cutanée normale. Signes d'encéphalite débutant le trente-neuvième jour. Décès le quarantième jour. Hémoculture négative. Culture d'une parcelle de cerveau négative.

Cortex : œdème important. Oligodendrocytes sur certaines plages. Cellules pyramidales toutes normales.

Région des noyaux gris centraux : Prolifération nette de la microglie dans le voisinage immédiat des capillaires congestionnés.

Cervelet : normal.

Singe 107, Papio species. — Evolution cutanée normale. Signes d'encéphalite débutant le onzième jour. Décès le douzième. Hémoculture négative. Ensemencement d'une parcelle de cerveau négatif.

Faible congestion piemérienne. Congestion cérébrale assez importante mais sans effusion sanguine dans la substance blanche sous-corticale.

Prolifération de la microglie périvasculaire.

Dans le cortex, sur certaines zones, de nombreuses cellules pyramidales ont un noyau rétracté et foncé, où le nucléole n'est plus visible. Le cytoplasme est, dans certaines, homogénéisé.

Conclusion : Les lésions de l'encéphale paraissent bien exister, mais sont trop peu importantes pour qu'on ait la certitude qu'elles sont la cause du décès.

En résumé : Nous rapportons l'existence d'une encéphalite mortelle chez certaines espèces de singes, après inoculation cutanée importante de virus vaccinal.

Les lésions anatomo-pathologiques constatées, si elles ne sont pas concluentes, se rapprochent cependant de celles de l'encéphalite post-vaccinale humaine.

Nous nous proposons de continuer dans l'avenir l'étude de cette question et d'essayer de mettre en évidence le virus vaccinal par inoculation intramusculaire au lapin.

(Institut Pasteur de Brazzaville.)

LA SÉRO-AGGLUTINATION DE HOLLANDE CHEZ 61 LÉPREUX DE LA GUADELOUPE

par J. MAUZÉ et M^{lle} E. PILIN.

En 1933, Hollande a mis au point une technique de séro-agglutination tuberculeuse qui utilise comme antigène une émulsion à 40.000.000 de germes par centimètre cube de bacilles de Koch vivants, souche BKH d'Arloing et Courmont.

Depuis, la réaction de Hollande a été effectuée non seulement dans la tuberculose, mais aussi dans d'autres affections où le terrain tuberculeux peut jouer un rôle.

De nombreux auteurs s'étant attachés, ces dernières années à rechercher des réactions sérologiques ou allergiques communes à la lèpre et à la tuberculose, il nous a paru intéressant d'effectuer la réaction de Hollande chez les lépreux et de voir si le sérum de ceux-ci agglutinait le bacille tuberculeux homogène. La souche que nous avons employée provient du laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Montpellier et est due à l'obligeance de M. le Prof. Hollande que nous tenons à remercier ici.

Voici les résultats obtenus chez 61 lépreux indemnes de tuberculose.

Tous sont traités soit par l'huile de Chaulmoogra (intramusculaire ou intraveineuse), soit par l'éther éthylique de Chaulmoogra, soit encore par le bleu de méthylène. Il ne semble pas que la nature du traitement influe sur la réaction.

De l'examen de ces divers cas, il ressort que :

1° Le sérum de lépreux possède un pouvoir agglutinant vis-à-vis du bacille tuberculeux homogène.

Le taux des résultats positifs est de 86,8 %.

Seules, 8 réactions se sont montrées négatives.

Aoki et Murao (1934), Rabelle (1938), ont déjà montré que la réaction de fixation du complément avec l'antigène tuberculeux de Witebsky-Klingenstein-Kuhn donne des résultats positifs dans la lèpre. D'après Montestruc (1935), la séro-floculation de Vernes à la résorcine est positive dans certaines formes de lèpre. Il semble donc qu'il y ait possibilité de réactions croisées antigène-anticorps entre la lèpre et la tuberculose et que les sérums lépreux et tuberculeux puissent posséder des propriétés physico-chimiques communes.

Récemment, Chaussinand (1947) a mis en évidence des réactions para-allergiques réciproques dans les deux affections.

Nos résultats viennent donc à l'appui de ceux déjà obtenus.

Signalons que la réaction de Hollande chez les lépreux s'est montrée positive à des taux plus élevés que ceux obtenus dans la tuberculose pulmonaire classique. Il est en effet admis que dans les tuberculoses ulcéro-caséuses, le taux d'agglutination est peu élevé et ne dépasse pas 1/10 : + + + + +, 1/15 : + + + + —. Au contraire, dans les tuberculoses oculaires torpides, les périviscérites, la démence précoce, le taux trouvé est élevé et Ch. Hollande pense que ces différences de taux sont dues à des stades évolutifs différents du germe infestant.

Chez les lépreux, plus de la moitié des réactions trouvées positives dépassent 1/15 + + + + + et 6 cas très fortement positifs présentent une agglutination totale au-delà de 1/50.

2° Il est intéressant de remarquer que les réactions positives se trouvent chez des malades en voie d'amélioration dont les derniers contrôles bactériologiques sont négatifs. Sauf dans 2 cas, les malades trouvés positifs n'ont pas de bacille de Hansen dans le mucus nasal.

Au contraire, les réactions négatives ou faiblement positives se trouvent le plus souvent chez des sujets ayant un mauvais état général avec présence constante du bacille de Hansen dans le mucus nasal et les scarifications cutanées.

On trouve également des réactions négatives dans des cas maculeux où la preuve bactériologique n'a jamais pu être faite.

En exceptant ces derniers, on peut penser que chez les lépreux tout comme chez les tuberculeux (1), la séro-agglutination est d'autant plus positive que le processus de défense vis-à-vis du germe infestant est intense. Une réaction négative avec contrôle bactériologique positif indiquerait un état d'anergie du sujet. Au contraire, une réaction positive serait l'indice d'un processus de défense favorable à l'amélioration.

D'autre part, un autre rapprochement s'impose avec la tuberculose.

(1) E. PILIN, Thèse Doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1944.

Nous avons vu que les réactions positives correspondent à une non-élimination du bacille de Hansen dans le mucus nasal, tandis qu'au contraire, les réactions faibles ou négatives s'accompagnent en général de l'élimination du B. H. dans le mucus. On peut donc faire un parallèle entre ces résultats et les différences de taux observés dans la tuberculose, selon qu'il s'agit de lésions ulcéro-caséuses (lésions circonscrites, pas de diffusion du B. K. dans l'organisme et généralement élimination du bacille par les crachats, les urines...), ou bien de tuberculoses non ulcéro-caséuses, les premières présentant un taux plus faible que les secondes.

3° Il ne semble pas y avoir de relation directe entre la positivité de la réaction et la forme clinique de la maladie. Toutefois, il semble que dans les formes nerveuses pures ou à prédominance nerveuse, la réaction soit plus fortement positive que dans les formes lépromateuses ou maculeuses. Nous ne saurions être trop affirmatifs, étant donné le petit nombre examiné des premières formes par rapport aux secondes. Il n'y aurait là d'ailleurs rien de surprenant, puisque, en accord avec ce que nous venons de dire dans les formes à prédominance nerveuse, le bacille se dissimule et ne se retrouve pas dans le mucus nasal.

Conclusion : Les lépreux, cliniquement exempts de tuberculose, présentent une séro-agglutination tuberculeuse positive dans 86,8 p. 100 des cas. Les résultats semblent être en rapport avec l'état de résistance du malade et l'élimination du bacille de Hansen dans le mucus nasal.

BIBLIOGRAPHIE

- HOLLANDE (A. Ch.) et PENN (M^{lle} J.). *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **113**, 889.
 AOKI (Yochio) et MURAO (Kitoshi). *Bull. Inst. Pasteur*, 1934, **32**, 42.
 MONTESTRUC (E.). *Bull. Inst. Pasteur*, 1935, **32**, 700.
 RABELLO (J.) et PINTO (T.). *Bull. Soc. Path. exot.*, 1938, **31**, 339.
 CHAUSSINAND (R.). *Ces Annales*, 1947, **73**, 811 et 814.
 HOLLANDE (A. Ch.) et HOLLANDE (M^{me} G.). *Soc. Pharm. Montpellier*, 1946-1947, **6**, 51.

(Institut d'Hygiène de la Guadeloupe.)

INFLUENCE DE LA SURINFECTION BANALE SUR LA TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE DU COBAYE

par F. TISON.

Dans un récent travail, nous avons montré que l'addition de pénicilline au produit tuberculeux surinfecté inoculé au cobaye a pour effet une tuberculisation plus rapide et plus fréquente de l'animal. Une expérience portant sur 104 sujets a prouvé que la période ante-allergique se trouve raccourcie de 20 p. 100 et que la sensibilité est accrue de 30 p. 100 (1).

(1) F. TISON, *Ces Annales*, 1947, **73**, 1024.

A. — La pénicilline agit-elle directement en aggravant la tuberculose ? Les travaux de Rivière et ses collaborateurs (2) auraient pu le laisser supposer. En fait, les comparaisons entreprises par nous-même (1) et par Levaditi et A. Vaisman (3) ont montré que cet antibiotique n'a aucune action aggravante sur la tuberculose du cobaye ou de la souris.

B. — Il semble, comme nous l'avons supposé, que seule l'élimination des germes banaux par la pénicilline peut favoriser l'extension de la tuberculose expérimentale du cobaye.

Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous avons inoculé, sous la peau de la cuisse gauche de 26 animaux, différents produits tuberculeux pauci-bacillaires non surinfectés (liquide pleural, liquide articulaire, pus d'abcès froid).

L'animal du groupe I recevait 1 cm³ du produit pur ; l'animal correspondant du groupe II (de même poids et de même sexe) recevait 1 cm³ du même produit soigneusement mélangé à 1 goutte de culture d'un ou plusieurs germes banaux (streptocoque, staphylocoque, pneumocoque).

Aucun des sujets n'a présenté de suppuration ouverte, qui aurait pu être une source d'erreur par élimination du produit.

Nous avons constaté que l'allergie apparaissait plus vite et plus intensément chez les 13 animaux du groupe I. Dans le groupe II, 2 animaux ont été sacrifiés vers le deuxième mois, sans que l'allergie soit encore apparue.

L'autopsie soigneuse de ces cobayes a montré constamment, sans aucune discordance, des lésions plus importantes dans le groupe I. La région inguinale gauche des animaux du groupe II présentait une adénopathie importante, entourée d'adhérences. Un des cobayes du groupe II était indemne de toute lésion tuberculeuse.

La présence de germes pyogènes au lieu même de l'injection a donc un effet retardateur sur la tuberculose expérimentale du cobaye. S'agit-il d'une action antibiotique de certains microbes comme l'ont signalé Mattick et Hirsch (4) pour un streptocoque ? Les travaux de Courmont et son école auraient pu le laisser supposer (5). Cependant, dans le cas particulier, un autre mécanisme semble entrer en jeu, car on peut remplacer les germes pyogènes par de la fécule stérilisée et obtenir des résultats voisins. La présence simultanée de fécule et de microbes a une action retardatrice plus importante encore. Ce qui confirme que seule la réaction de défense locale joue un rôle retardateur sur la tuberculose et sur l'apparition de l'allergie. Dans certains cas, une infection tuberculeuse très pauci-bacillaire peut même être évitée définitivement.

En conclusion pratique, l'addition de pénicilline au produit pathologique surinfecté (crachat, pus, etc...) devant être inoculé au cobaye a pour double résultat :

1° D'éviter la mort possible de l'animal par suppuration banale ;

(2) RIVIÈRE, THÉLY et GAUTRON, *C. R. Acad. Sci.*, 1947, 224, 1856.

(3) C. LEVADITI et A. VAISMAN, *C. R. Soc. Biol.*, 1947, 141, 1171.

(4) MATTICK et HIRSCH, *Lancet*, 23 mars 1912, 417.

(5) COURMONT et BOISSEL, *Thèse Lyon*, 1912.

2° De donner une réponse plus sensible et plus rapidement lisible par l'intra-dermo-réaction.

Ceci est dû uniquement à l'élimination des germes banaux, d'où résulte une moindre sollicitation de la défense locale et en particulier du système lymphatique.

(Travail du Laboratoire Central des Villages-Sanatorium de Haute Altitude. Praz-Coutant, Hte Savoie.)

L'ALLOXANE A-T-ELLE DES PROPRIÉTÉS ANTISEPTIQUES ?

par Albert MOREL, André JOSSERAND et Jean VIALIER.

Bien que l'alloxane ou mésoxalyluréide n'ait pas cessé, depuis sa découverte dans les produits d'oxydation de l'acide urique par Wœhler et Liebig, d'intéresser les biologistes, on s'est assez peu préoccupé de rechercher si elle a ou non un pouvoir microbicide. Cependant, on pouvait lui en supposer un, puisqu'elle possède un énergique pouvoir déshydrogénant étudié par plusieurs chercheurs à la suite de Stecker qui, en 1862, montra le mécanisme de sa transformation en isopurpurate d'ammonium lorsqu'elle déshydrogénise, désamine et décarboxyle les amino-acides, grâce à la facilité avec laquelle elle fixe de l'hydrogène pour engendrer réversiblement l'alloxantine. La connaissance de cette réversibilité a permis d'expliquer le rôle que joue dans les phénomènes vitaux de l'oxydo-réduction le noyau isoxalinique que Karrer, ainsi que Richard Kuhn ont su réaliser par action de l'alloxane sur les phénylène-diamines substituées, comme étape dans leurs synthèses des flavines auxquelles appartiennent la vitamine B₂ et le co-enzyme du ferment jaune de Warburg.

D'autre part, Dunn et Allen ont découvert que les injections d'alloxane amènent la nécrose sélective des îlots de Langerhans avec la mort des animaux en hypoglycémie ou, si ceux-ci résistent quelque temps, avec production d'un diabète sucré, de sorte qu'on a pu se demander si cette substance, dont la formation *in vivo* à partir de l'acide urique serait possible, n'interviendrait pas comme hormone régulatrice de la formation de l'insuline et même, ainsi que l'a fait Berthoud dans un article de la *Presse Médicale*, si d'agent causal elle ne pourrait pas, à très petites doses il est vrai, devenir un agent curatif du diabète.

Enfin, Burgen et Lorch viennent (1947) de publier dans le *Biochemical Journal* que l'alloxane est le type de certains uréides qui seraient comme elle diabétogènes et qui inhibent fortement les phosphatases alcalines du rein et d'autres organes, comme le fait le sel complexe ferrico-sodique de l'acide alloxanique (premier produit d'hydrolyse de l'alloxane), dont deux d'entre nous (A. M. et A. J.), en collaboration avec Paul Santy, ont signalé à l'Académie de Médecine en novembre 1942. l'action désinfiltrante exercée sur divers cancers, notamment sur ceux de l'œsophage.

En raison de toutes ces activités biologiques présentées par l'alloxane et ses dérivés, il nous a paru intéressant de rechercher si ce corps, très soluble dans l'eau, ajouté à des bouillons de culture, ne posséderait pas un pouvoir infertilisant et un pouvoir bactéricide marqués.

CONDITIONS EXPÉRIMENTALES. — Notre alloxane était un produit très bien cristallisé sous la forme de monohydrate, fraîchement préparé, parfaitement blanc et exempt soit d'alloxantine, soit de l'acide nitrique employé dans sa purification. Comme elle présente, en solution dans l'eau distillée, une réaction légèrement acide, nous avons, chaque fois, neutralisé les liquides, où elle était ajoutée, par addition ménagée de bicarbonate de sodium, en amenant le pH aussi près que possible de 7, sans dépasser ce chiffre pour éviter une transformation en acide alloxanique par l'hydrolyse qui commence quand le milieu est alcalinisé.

Pour la recherche du pouvoir infertilisant nous avons effectué 3 séries d'expériences avec, en tout, 25 souches différentes de microbes, qui ont été :

Pour la première série : 1 typhique, 1 paratyphique B, 1 colibacille et 3 staphylocoques dorés.

Pour la deuxième série : 2 typhiques, 1 paratyphique B, 1 colibacille, 1 B Flexner, 1 B. Shiga et 3 staphylocoques dorés.

Pour la troisième série : 2 typhiques, 1 paratyphique B, 1 colibacille, 1 Proteus X 19, 1 B. Flexner et 3 staphylocoques dorés différents.

Dans chaque série, le stock de milieu (bouillon ordinaire) était divisé en 3 portions : la première sans addition d'alloxane, destinée aux témoins, ensemencées comme les tubes des deux autres portions, les deux autres, additionnées immédiatement avant l'ensemencement d'alloxane monohydratée à des concentrations respectives de 1/1.000 pour l'une et de 1/100 pour l'autre. Chacune de ces 3 portions était neutralisée, comme il a été dit, puis stérilisée par filtration sur bougie L₃ et répartie à raison de 8 cm³ par unité dans des tubes stérilisés. Chaque souche de microbes était ensemencée à raison de 11 gouttes de culture de vingt-quatre heures en bouillon ordinaire dans 3 tubes : 1 témoin et 2 avec alloxane aux concentrations indiquées.

Les résultats ont été notés après vingt-quatre, puis quarante-huit heures d'étuve à + 37°. Dans chacune de ces 3 séries, nous n'avons observé aucune action infertilisante manifeste, même pour la concentration en alloxane monohydratée de 1/100.

Tout au plus y a-t-il eu de légères différences avec les témoins dans quelques cas seulement et il est impossible d'en tenir compte.

Pour la recherche du pouvoir bactériolytique ou antiseptique, qui était d'autant plus indiquée, qu'elle devait permettre d'éliminer ce qui, dans les expériences précédentes, pouvait, malgré les précautions prises, laisser soupçonner qu'une partie de l'alloxane se serait transformée pendant le séjour à l'étuve en un dérivé dépourvu des propriétés de celle-ci, nous avons utilisé des solutions d'alloxane monohydratée en eau distillée stérile, à des concentrations de 1/100 pour les 5 premières de 6 expériences et de 1/50 pour la dernière de celles-ci.

Après neutralisation, filtration sur bougie L₃ et répartition dans des tubes stérilisés, à raison de 8 cm³ par tube, nous avons ajouté à chacun de ceux-ci 11 gouttes de culture microbienne en bouillon ordinaire.

Après un contact, soit de vingt-quatre, soit de quarante-cinq heures à la température du laboratoire (entre + 15° et + 20°), le contenu de chaque tube a été centrifugé, puis le culot, lavé avec 5 cm³ d'eau distillée stérile, a été réensemencé dans du bouillon ordinaire. Pour chaque espèce microbienne, un témoin a été préparé de la même façon, mais avec contact de la même durée dans de l'eau distillée stérile sans addition d'alloxane, et il a permis de se rendre compte de la vitalité de la souche.

Les effets notés après vingt-quatre et quarante-huit heures d'étuve à + 37° sur les réensemencements ont été pour chaque espèce *assez variables*, mais, *dans l'ensemble, plutôt négatifs*, aussi bien avec la concentration à 1/50 qu'avec celle à 1/100 et ceci avec des souches de microbes variées : 2 typhiques, 4 paratyphiques B, 1 coli, 1 B. de Flexner, 1 Proteus X 19 et 3 staphylocoques dorés. Seules une souche de typhique, 2 de paratyphiques B et 1 de staphylocoque se sont montrées sensibles à la bactériolyse. Ces résultats, qui étaient inattendus, étant donné ce que l'on savait des propriétés biologiques de l'alloxane, permettent de conclure que s'il existe pour les solutions aqueuses de cette substance un pouvoir bactériolytique ou antiseptique, celui-ci est assez variable et, en tout cas, extrêmement faible.

(Faculté de Médecine et Institut Bactériologique de Lyon.)

ÉTUDE DU SÉRUM ANTIPESTEUX DE CHEVAL

par G. SANDOR, G. GIRARD et C. SKROBISZ

avec la collaboration de A. CHEVALLIER.

Dans une note à l'Académie des Sciences, nous avons annoncé que le bacille pesteux ne possédait pas d'exotoxine à proprement parler (1). Depuis, le problème a reçu de nombreuses précisions et présentement nous allons en résumer l'essentiel.

Le bacille pesteux est le pivot pour ainsi dire de ce réseau de faits qui nous a permis de baser une classification des antigènes bactériens, indépendante de tout caractère physico-chimique, et déterminée uniquement par les caractères des réactions immunitaires. Ce bacille, en effet, ne contient, d'une part, que des antigènes protéidiques (2) qui se rapprocheraient ainsi par leur nature purement chimique des exotoxines. Les immunsérums, d'autre part, sont obtenus dans ce cas de trois manières foncièrement distinctes : soit par injection intraveineuse de bacilles vivants, soit par injection sous-cutanée de l'anatoxine pesteuse, soit enfin, par l'injection intraveineuse de cette même anatoxine. Il nous a été possible ainsi de caractériser des réactions immunitaires indépendantes du mode d'immunisation.

(1) G. GIRARD et G. SANDOR, *C. R. Acad. Sci.*, 1947, **224**, 1078.

(2) BARER, SOMMER, FOSTER, MEYER et MEYER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1947, **64**, 139.

Du point de vue de la constitution de ces divers sérums, un premier point paraît mettre en évidence un problème soulevé par Heidelberger. Cette euglobuline I aussi caractéristique des sérums antibactériens que nous avons décrits à diverses reprises (3) ne semble apparaître, en effet, en quantité appréciable que lorsque l'antigène est introduit par la voie intraveineuse. Elle apparaît alors d'ailleurs dans le cas de l'injection de l'anatoxine, comme dans celui de l'infection pesteuse, quoique dans ce dernier cas sa quantité soit nettement supérieure, en général. Simultanément, le sérum acquiert des propriétés floculantes et agglutinantes plus ou moins spécifiques, intimement liées à l'euglobuline I. Lors de l'injection sous-cutanée de l'anatoxine pesteuse, par contre, l'équilibre se déplace en faveur d'une autre fraction euglobulinique. Celle-ci précipite de façon optima aux environs de pH 6, après que l'euglobuline I a été éliminée et le sérum dilué au 1/4 dans l'eau distillée. Nous l'avons appelée l'euglobine II A. Les propriétés agglutinantes et floculantes de ces sérums sont inexistantes, d'ailleurs, et il en est de même, évidemment, pour les fractions euglobuliniques.

En ce qui concerne l'effet protecteur sur les souris atteintes d'infection pesteuse, l'activité est partagée, en général, entre l'euglobuline et la pseudoglobuline, mais toujours lorsqu'une euglobuline I apparaît en quantité appréciable, elle est sensiblement plus active que la pseudoglobuline. L'activité protectrice des euglobulines est supportée par l'euglobuline II A chez les animaux immunisés par la voie sous-cutanée.

Les antitoxines, comme Pope (4) et nous-même (5) l'avons montré, résistent à la protéolyse suivie de coagulation sélective dans des conditions de pH et de salinité bien déterminées. Or, toute activité floculante, agglutinante et protectrice est détruite, dans les mêmes conditions exactement, dans les sérums pesteux quelle que soit la voie d'immunisation et l'antigène employés.

CONCLUSION. — Nous voyons donc, tout d'abord, que du fait de l'activité sensible des fractions euglobuliniques « de dialyse », le sérum pesteux est du type antibactérien et non antitoxique. Ce fait est confirmé par l'absence de « fraction résistante de Pope » ; une activité immunitaire, c'est-à-dire, qui résiste à la protéolyse en milieu faiblement acide, suivie de coagulation sélective. Les antigènes, purement protéidiques pourtant, du bacille pesteux ne sont donc pas des exotoxines ou toxines véritables, mais des endotoxines, ou des « antigènes bactériens » tout court (6).

(Institut Pasteur.)

(3) G. SANDOR *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 164. *Ist. Sieroterap. italiano*, 1947, **22**, 205.

(4) POPE, *Brit. J. exp. Pathol.*, 1938, **19**, 245.

(5) G. SANDOR, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1940, **22**, 189.

(6) G. SANDOR, *Antigènes des microbes pathogènes*, Doin, Paris, 1935.

ÉTUDES DES ANTICORPS ANTI-RICKETTSIÆ DU SÉRUM DE LAPIN

par G. SANDOR, P. GIROUD et M^{lle} C. SKROBISZ.

Dans la présente communication nous apportons les premiers résultats de l'application de notre technique de caractérisation des anticorps au sérum de lapin. Comme nous l'avons déjà indiqué dans une note à l'Académie des Sciences (1), le sérum anti-rickettsiæ (exemple d'un sérum antiviral), constitue un cas intéressant de plusieurs points de vue.

Comme dans le cas du sérum de lapin normal, on ne peut séparer de ces sérums un précipité en quantité appréciable au cours de la dialyse simple contre l'eau distillée. Ceci, du moins, si la dialyse est prolongée pendant deux à trois jours seulement. Par acidification, par contre, on peut extraire du sérum dialysé et dilué au 1/4, un précipité abondant, le pH optimum étant environ 5,5. Ce précipité entraîne 8 p. 1000 en moyenne des protéides sériques et peut être fractionné ultérieurement en présence d'un phosphate tampon dilué (N/100) vers pH 6 en un protéide insoluble et un autre soluble, en quantités égales en général (euglobuline II B, et II A). Le protéide insoluble se disperse très difficilement et seulement dans l'eau physiologique en milieu faiblement alcalin ; sa solution est d'une opalescence très marquée. Il s'agit d'un complexe lipoprotéidique contenant 40 p. 100 environ de lipides constitués uniquement de graisses neutres. Cette fraction est dépourvue de toute activité agglutinante vis-à-vis des rickettsiæ. Le protéide soluble ne contient qu'un faible pourcentage de lipides et donne des solutions parfaitement limpides, même dans l'eau très faiblement salée. Il entraîne souvent la totalité de l'activité agglutinante, dont une proportion variable, mais en général sensiblement moindre, se retrouve aussi parfois, cependant, dans les pseudoglobulines.

Dans les sérums de lapin anti-ovalbumine ou antiglobulines de cheval, il existe une euglobuline I qui contient une faible proportion de l'activité floculante spécifique, dont la quasi-totalité se retrouve dans les pseudoglobulines (G. Sandor). Comme les protéides banaux se rapprochent des exotoxines du point de vue antigénique (G. Sandor : Etude des précipitines antiprotéidiques p. 519), les virus s'en séparent donc, par contre. Et les premiers résultats obtenus avec Stefanopoulo concernant le sérum anti-fièvre jaune du cheval confirment nos résultats. Les rickettsiæ seraient ainsi comparables aux endotoxines ou antigènes bactériens.

(Institut Pasteur.)

(1) G. SANDOR et P. GIROUD, *C. R. Acad. des Sci.*, 1947, 225, 704.

ÉTUDES DES PRÉCIPITINES ANTIPROTÉIDIQUES

par G. SANDOR.

Si en ce qui concerne leur réaction immunitaire, les « endotoxines » ou « antigènes bactériens » se distinguent nettement des toxines bactériennes véritables, pour situer logiquement cette différence dans le cadre de la biologie générale, il fallait savoir où se situent les caractères antigéniques des protéides banaux. Les endotoxines, en effet, peuvent être protéidiques comme les exotoxines ; celle des deux qui aura des caractères antigéniques comparables à ceux des protéides banaux, pourra être qualifiée elle-même de « banale ».

Pour répondre au problème posé, nous avons immunisé un cheval par des injections sous-cutanées de pseudoglobuline de porc. Après deux séries d'immunisations séparées par un intervalle de repos, le cheval a été saigné et son sérum soumis à diverses épreuves.

Au cours du fractionnement par dialyse, comme nous le pratiquons habituellement (1), une euglobuline I se sépare en quantité dépassant faiblement la moyenne ; les euglobulines acides, par contre, ne sont pas modifiées sensiblement. L'activité floculante est pratiquement supportée en totalité par des pseudoglobulines « de dialyse », mais l'euglobuline I flocule aussi manifestement et paraît supporter 5 à 10 p. 100 environ de l'activité totale. Pour une dilution suffisante de l'antigène (0,1 à 0,3 p. 1.000 environ) le phénomène de l'optimum de Ramon, Dean et Webbs apparaît caractéristique, se déplaçant avec la dilution de l'antigène

pour conserver un rapport : $\frac{\text{antigène}}{\text{anticorps}}$ constant. Cet optimum apparaît nettement dans le cas des pseudoglobulines et de sérum total, mais dans le cas des euglobulines, on observe au maximum un mélange dont le précipité se prend en grumeaux le premier, ce qui paraît remplacer l'optimum de floculation dans quelques cas (Dean et Webbs, Ramon).

Après digestion pepsique en milieu faiblement acide suivie de coagulation sélective, 20 p. 100 environ de l'activité floculante totale se retrouvent avec le caractère de rapidité habituel des sérums antitoxiques purifiés (2). Comme au cours de l'immunisation antitoxique (3) enfin, le taux de la fraction résistante se trouve nettement augmenté.

L'activité de l'euglobuline I est nettement plus élevée et le « rendement » de la digestion protéolytique nettement plus faible (4-5) que dans le cas des sérums antitoxiques ; malgré cela, dans son ensemble, le sérum antiprotéidique banal se trouve être du type antitoxique. La plus grande partie de l'activité se retrouve, en effet, dans les pseudoglobulines,

(1) G. SANDOR et M. BESSIS, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 157.

(2) G. SANDOR, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1940, **22**, 129.

(3) P. SEDALLIAN et G. SANDOR, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1942, **24**, 1400.

(4) G. SANDOR, P. LEMÉTAYER et NICOL, *Ces Annales*, 1947, **73**, 1643.

(5) G. SANDOR, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 157.

d'une part, et, d'autre part, il existe manifestement une « fraction résistante de Pope ». Les exotoxines, dès lors, se rangent à côté des antigènes protéïdiques « banaux » justifiant largement le caractère avirulent des bactéries qui les produisent. Et les « endotoxines » ou « antigènes bactériens » possèdent tous des particularités immunitaires en rapport intime avec le caractère hautement parasitaire des bactéries qui les produisent.

(Institut Pasteur.)

ACTION DU TARTRATE D'ERGOTAMINE SUR LE VIRUS HERPÉTIQUE

par F. MARCENAC

D'après Birkhauser, le tartrate d'ergotamine serait efficace dans le traitement de l'herpès humain de la cornée, en l'administrant par voie buccale (1). L'auteur explique en ce cas l'action du tartrate d'ergotamine par une excitation du système sympathique (2).

De notre côté, nous avons essayé l'action du tartrate d'ergotamine *in vivo* et *in vitro*. Nous nous sommes servi dans nos expériences d'une souche d'herpès (souche *Bruzelles*), qui provoque une encéphalite herpétique chez le lapin à la soixante-douzième heure et chez le cobaye entre le cinquième et le sixième jour, avec des lésions typiques.

In vivo, nous avons effectué deux séries d'expériences : l'une sur l'encéphalite herpétique et l'autre sur l'herpès de la cornée.

1° *Encéphalite*. — a) *Chez le lapin* : 3 lapins sont inoculés par voie intracérébrale. Simultanément le traitement est commencé par voie intraveineuse, en injectant 1,5 mg. de Gynergène Sandoz. Les 3 animaux sont morts en même temps que le témoin. L'examen histologique montre des lésions typiques.

b) *Chez le cobaye* : Nous avons effectué nos expériences sur 20 animaux. En même temps que l'inoculation par voie intracérébrale, on commence le traitement par voie sous-cutanée en injectant 0,5 mg. de Gynergène par jour. Le traitement se poursuit jusqu'à l'apparition des symptômes encéphalitiques, lesquels se produisent en même temps que chez les témoins.

2° *HERPÈS DE LA CORNÉE*. — Trois lapins sont inoculés d'herpès à la cornée par scarification. La kératoconjunctivite apparaît au quatrième jour. On commence alors le traitement en injectant 1 mg. de Gynergène par jour. Les lapins meurent d'encéphalite typique entre le dixième et le onzième jour.

(1) R. BIRKHAUSER, *Experientia*, 1946, 2, 222.

(2) R. BIRKHAUSER, *Praxis*, 1942, 5, 2; *Schweiz. Ophthalm. Ges.*, 1942; *Schweiz. med. Wschr.*, 1943, 34, 33; *Ophthalmologica*, 1943, 106, 214.

Dans une seconde expérience, 2 lapins sont traités par voie sous-cutanée avec 3 mg. de Gynergène par jour, après apparition de la kératite. Aucune action thérapeutique n'a été observée : les lapins succombent en même temps que les témoins. Il faut remarquer que la dose administrée dans ce cas est très élevée et voisine de la dose toxique pour le lapin (3,5 mg. par kilogramme, d'après Stoll).

Même résultat chez un lapin traité en lui injectant par voie intra-conjonctivale 0,5 mg. de Gynergène par jour.

Deux lapins sont encore traités par instillations dans l'œil, deux fois par jour, une fois la kératite apparue. Mort au dixième jour.

Deux autres lapins sont traités de même, mais une heure après l'ino-culation. Le traitement se poursuit deux fois par jour. La kératocon-jonctivite apparaît au quatrième jour et les lapins meurent d'encéphalite au huitième jour.

3° ACTION *in vitro*. — Par contre *in vitro*, le tartrate d'ergotamine s'est montré nettement virulicide à un taux de 10^{-6} , pour une concentration de virus de 1/200, après un contact de vingt minutes à la glacière et injection du mélange par voie intracérébrale. Les essais ont été faits sur une série de 20 animaux. Les témoins ont présenté la maladie entre le sixième et le septième jour.

Les solutions de tartrate d'ergotamine dans de l'eau bidistillée pré-sentent une réaction acide. Le pH monte jusqu'à la neutralité lorsqu'on les dilue avec de l'eau physiologique. Au moyen de la méthode colori-métrique, nous avons obtenu les chiffres suivants :

DILUTION	pH
10 — 4	4,8
10 — 5	6,0
10 — 6	7,0

Ce n'est donc pas à la seule acidité des solutions qu'il faut attribuer l'action exercée sur le virus, puisqu'aux dilutions employées (10^{-6}) le pH était voisin de la neutralité.

CONCLUSIONS. — 1° *In vivo*, soit dans le cas d'encéphalite, soit dans le cas de kératite herpétique, le traitement au moyen de tartrate d'ergo-tamine s'est montré d'une inefficacité complète.

2° Le tartrate d'ergotamine s'est montré *in vitro* nettement virulicide jusqu'à un taux de 1.10^{-6} pour une émulsion de cerveau virulent diluée à 2.10^{-2} .

(Institut Pasteur, Service des Virus [D^r P. Lépine])

CAS D'INFECTION DU PAIN PAR *BACILLUS MEGATHERIUM* DE BARY

par M^{lle} Berthe DELAPORTE et M. Maurice LEMOIGNE.

On observe quelquefois, surtout pendant les grandes chaleurs, une altération du pain, connue sous les noms de pain filant ou de pain visqueux. De nombreux auteurs ont étudié ce phénomène. Tous sont d'accord pour trouver qu'il est dû à des bactéries aérobies produisant des spores (bactéries du genre *Bacillus*).

Beaucoup de bactériologistes et tous les techniciens s'accordent à reconnaître qu'une acidification de la pâte permet d'enrayer le développement microbien. Si beaucoup d'auteurs n'ont porté leur attention que sur cette question de l'acidité, quelques-uns ont déterminé les bactéries en cause. Nous signalerons parmi les auteurs les plus récents : D. J. Lloyd, A. B. Clark et E. D. McCrea [1921] (1), M. Istin et H. Roussel [1941] (2) et D. K. O'Leary et R. D. Kralovec [1941] (3). Tous s'accordent, rejoignant en cela les travaux anciens de Laurent [1885] (4) et de Vogel [1897] (5) à reconnaître que ces bacilles appartiennent au groupe du *Bacillus mesentericus*. T. Gibson (6) désigne actuellement ce bacille sous le nom de *B. licheniformis* (Weigman), Chester et N. R. Smith, R. E. Gordon et F. E. Clark (7) sous celui de *B. pumilus* (Gottheil). Il s'agit dans tous ces cas d'un très petit bacille, Gram-positif, très mobile, donnant des quantités très importantes d'acétylméthylcarbinol, sans réserves lipidiques apparentes.

Nous avons observé nous-mêmes, à diverses reprises, des accidents du pain provoqués par des organismes analogues ; notamment, pendant l'été 1947, à Paris, le pain fabriqué par plusieurs boulangers, avec un même mélange de farines comportant 50 p. 100 de maïs, devenait rapidement filant et l'on y reconnaissait un mélange de *B. mesentericus* et de *B. subtilis*.

Au mois de mai 1940, par contre, à Grignon, nous avons observé, dans du pain à la mie très collante, légèrement visqueuse, une infection provoquée par de gros bacilles si nombreux qu'au microscope ils apparaissaient comme une culture pure très abondante. A l'isolement, c'étaient de très gros bâtonnets, atteignant 2 μ de large sur 2,8 à 4,3 μ de longueur, isolés ou par 2 ou 4, contenant de nombreux globules lipidiques, et dont les spores, ovoïdes, mesuraient 1,0-1,3 \times 1,7-2,0 μ . La culture sur gélose sucrée est épaisse, crémeuse, lisse, brillante, opaque, blanc.

(1) D. J. LLOYD, A. B. CLARK et E. D. MC. CREA, *J. Hyg.*, 1921, **19**, 380.

(2) M. ISTIN et H. ROUSSEL, *Arch. Inst. Past.* Tunis, 1941, **30**, 151.

(3) D. K. O'LEARY et R. D. KRAVOLEC, *Cereal Chem.*, 1941, **18**, 730.

(4) LAURENT, *Bull. Acad. Roy. Sci., Belgique*, S. 3, 1885, **10**, 765.

(5) VOGEL, *Zeitschr. Hyg.*, 1897, **26**, 398.

(6) T. GIBSON, *Dairy Research*, 1944, **13**, 248.

(7) R. E. GORDON et F. E. CLARK, *U. S. Depart of Agr. Miscell. Public.*, n° 559, 112 p. (1946).

crème et devient brunâtre après quelques jours. Les colonies sont rondes, bombées, lisses, crémeuses, opaques. Les cultures sur milieux spéciaux ainsi que l'existence de lipides β -hydroxybutyriques permettent de l'identifier à *B. megatherium* De Bary.

Cette infection par le *B. megatherium* est heureusement rare, car étant plus résistant à l'acidité, ce bacille supporte des pH plus bas, ce qui rendrait moins efficace les techniques habituelles d'acidification de la pâte utilisée pour la lutte contre cette infection.

(Institut Pasteur.)

Les communications suivantes paraissent ou paraîtront en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur* :

Obtention d'un *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline et étude de ses caractères, par M. FAGUET.

Recherches sur la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* en culture homogène, par W. SCHAEFER.

Sur les erreurs de dosage de la streptomycine dans les milieux de culture, par M^{me} F. GRUMBACH et F. BOYER.

Fatigue musculaire, pH et prolifération bactérienne dans la viande, par M. INGRAM.

TABLE ANALYTIQUE

DU TOME 74

<i>Acide formique</i> . Dosage de l'— — en mélange avec d'autres acides volatils.	345
— <i>malique</i> . Décarboxylation de l' — —	433
— Le potassium et la décarboxylation bactérienne oxydative des acides — et oxalo-acétique.	433
— <i>oxalo-acétique</i> . Voir <i>acide malique</i> .	
— <i>p.aminobenzoylglutamique</i> . Action de l'— — et des oxyméthyl-ptérines sur <i>Lactobacillus casei</i>	113
<i>Acides gras</i> . Voir <i>Estérification</i> .	
<i>Actinobacterium abcessus</i>	333
<i>Alexine</i> . Action des esters sulfuriques polysaccharidiques. Effet antagoniste des colorants basiques	40
<i>Alloxane</i> . L'— a-t-elle des propriétés antiseptiques ?	514
<i>Anaérobies</i> . Action de l'oxygène sur les — stricts.	216
Voir <i>Bactéries anaérobies</i> .	
<i>Anatoxine diphtérique</i> . Anticorps formés chez le cheval par injections intraveineuse et intradermique d' — —	19
<i>Antibiotiques</i> . Voir <i>Pénicilline</i> , <i>Streptomycine</i> , etc.	
<i>Antibiotique</i> (Pouvoir). Stabilisation du pouvoir bactériostatique des savons des acides gras de l'huile de foie de morue et sur leur mode d'action.	72
<i>Anticorps</i> formés chez le cheval par injections intraveineuse et intradermique d'anatoxine diphtérique.	19
<i>Antipesteux</i> . Etude du sérum — de cheval.	516
<i>Antiphages</i> . Voir <i>Lysats bactériophagiques</i> .	
<i>Antiprotéidiques</i> . Etudes des Précipitines —	519
<i>Anti-rickettsiae</i> (Anticorps). Etudes des anticorps — — du sérum de lapin.	518
<i>Aujeszy</i> . Premier cas chinois de maladie d'—.	130
<i>Azotobacter</i> . Cycle morphologique et appareil nucléaire des —	182
— Sur les benzotoases des —. Facteurs physiques.	423
<i>Bacilles paracoli</i> . Propriétés biochimiques et antigéniques des — —	429
— <i>paratuberculeux</i> . La 2-méthyl-4-amino-5-amino-méthyl-pyrimidine, facteur de croissance pour les formes S et R d'une souche de — —	91
— de <i>Schmorl</i> . Sensibilité du — — à la pénicilline.	253

<i>Bacilles tuberculeux</i> . Utilisation par oxydation de quelques substances azotées par le — de Koch.	464
— Activité monocyto-gène des vieilles suspensions lysées de — — morts.	389
— Essais de culture du B. K. dans le milieu de Dubos.	134
— Homogénéisation des crachats et centrifugation du B. K. vivant en vue de l'inoculation au cobaye.	128
— Lyse des cultures de — — sur pomme de terre à l'eau glycinée et lyse des — — morts en suspension aqueuse à l'abri de l'air à 38°.	175
<i>Bacillus megatherium</i> . Infection du pain par — — De Bary.	522
<i>Bactérie anaérobie</i> . Etude d'une — — nouvelle du fromage de gruyère fondu : <i>Clostridium aromaticum</i>	256
— Métabolisme phosphoglucidique chez une — — stricte : <i>Clostridium sporogenes</i>	347
— Etudes de systématique bactérienne. Classification des <i>Cytophaga</i>	394
<i>Bactérie</i> Moraxella Iwoffi. Nécessité de l'ion Mg pour la croissance de la — — —	433
<i>Bactéries</i> . Code de Nomenclature bactérienne.	271
— Comportement différent des <i>Erysipelothrix</i> et des <i>Listeria</i> sur milieu de culture à l'esculine.	57
— Germe du genre <i>Listeria</i> apparemment non pathogène.	54
— Voir <i>Coloration</i> .	
— Voir <i>Venin de Serpent</i> .	
<i>Bactéries anaérobies</i> . Etude des — — d'A.O.F. (Sénégal, Guinée, Côte d'Ivoire).	157
<i>Bactéries saprophytes</i> . Voir <i>Virus vaccinal</i> .	
<i>Bactériophage</i> . Etude quantitative du — de la mer.	104
<i>Bactériophagiques</i> (Lysats). Emploi des lysats — obtenus en milieu nutritif pauvre, pour la préparation des sérums antiphages.	85
<i>Bactériostatiques</i> (Propriétés). Etude des propriétés — de la clitocybine.	118
B.C.G. Maintien de la faible virulence du —. Etude expérimentale et critique à propos de travaux Danois.	171
<i>Benzotoases</i> . Sur les — des <i>Azotobacter</i>	423
<i>Borate de phényl-mercure</i> . Surinfection expérimentale de suspensions pures de virus vaccinal : Action élective du — — — sur les bactéries saprophytes.	99
<i>Chats</i> . Formes leucocytosiques de la leucopénie des —.	209
— Détermination par ultrafiltration de la taille du virus de la leucopénie infectieuse des —.	155
<i>Cheval</i> . Anticorps formés chez le — par injections intraveineuse et intradermique d'anatoxine diphtérique.	19
— Etude du sérum antipesteux de —.	516
<i>Choléra-Roth</i> . Mécanisme de la réaction du —.	27
<i>Chromatographie</i> . Séparation de deux isomères biologiques de	

l'acide aminobenzoïque (ortho et para) au moyen de la — sur papier.	146
<i>Clitocybine</i> . Propriétés bactériostatiques de la —.	118
<i>Clostridium aromaticum</i> . Etude d'une bactérie anaérobie nouvelle du fromage de gruyère fondu : — —.	256
<i>Clostridium chauvæi</i> . Toxine du — —.	189
<i>Coagulase</i> . Pouvoir antigénique de la — staphylococcique. . . .	148
<i>Colorants basiques</i> . Voir <i>Alexine</i> .	
<i>Coloration</i> . Technique de Robinow à la — des spores bactériennes. .	60
<i>Corps élémentaires</i> . Méthode rapide d'obtention des — — à l'état pur.	418
<i>Cuivre</i> . Cause d'erreurs dans les réactions d'hémagglutination. Rôle du —.	261
— Fixation du — par les hématies.	248
— Voir <i>Protéine</i> .	
<i>Cultures de tissus</i> . Action de la streptomycine sur l'infection tuberculeuse en — —.	1
— Culture sur membranes plastiques en milieu liquide de différents tissus (tissu nerveux et mésenchymateux).	312
<i>Diphthérie</i> . Anticorps formés chez le cheval par injections intraveineuse et intradermique d'anatoxine diphtérique. . . .	19
— Modification du pouvoir pathogène de la toxine diphtérique par la salive.	401
<i>Encéphalite</i> . Certains signes peuvent-ils faire une — post-vaccinale ?	508
<i>Estérification</i> . Influence de l'— sur le pouvoir bactériostatique des acides gras de l'huile de foie de morue.	328
<i>Esters sulfuriques polysaccharidiques</i> . <i>Alexine</i> . Action des — — —. Effet antagoniste des colorants basiques.	40
<i>Facteurs de croissance</i> . Mise en évidence dans le jaune d'œuf de — — pour certains microbes.	70
<i>Fusocillus plauti</i> . Recherches sur — —.	254
<i>Hémagglutination</i> . Cause d'erreurs dans les réactions d'—. Rôle du cuivre.	261
<i>Hématies</i> . Fixation du cuivre par les —.	248
<i>Huile de foie de morue</i> . Injection intraveineuse d'— — — au lapin et à l'homme.	331
— Voir <i>Estérification</i> .	
<i>Infection tuberculeuse</i> . Action de la streptomycine sur l'— — en cultures de tissus.	1
<i>Lactobacillus casei</i> . Voir <i>Acide p-aminobenzoylglutamique</i> .	
<i>Lapin</i> . Anticorps anti-rickettsiæ du sérum de —.	518
<i>Lèpre</i> . La séro-agglutination de Hollande chez 61 lépreux de la Guadeloupe.	510
<i>Leucopénie des chats</i> . Détermination par ultrafiltration de la taille du virus de la — infectieuse des chats.	155

<i>Leucopénie des chats</i> . Formes leucocytosiques.	209
<i>Lymphogranulomatose</i> . Voir <i>Virus de la —</i> .	
— <i>inguinale</i> . Conservation du pouvoir antigène du virus de la Maladie de Nicolas et Favre.	140
<i>Lysats bactériophagiques</i> . Emploi des — — obtenus en milieu nutritif pauvre, pour la préparation des sérums antiphages.	85
<i>Maladie de Nicolas et Favre</i> . Voir <i>Lymphogranulomatose inguinale</i> .	
<i>Mer</i> . Etude quantitative du bactériophage de la —.	104
<i>Métabolisme phosphoglucidique</i> chez une bactérie anaérobie stricte : <i>Clostridium sporogenes</i>	347
<i>Méthanol</i> . Recherche et dosage de petites quantités de —.	233
<i>Microflores fixatrices et cellulolytiques</i> . Rapports entre les — —.	242
<i>Microscope électronique</i> . Morphologie et dimensions de l'agent étiologique de la tularémie observé au — —.	412
— Structure du virus de la lymphogranulomatose inguinale examiné au — —.	421
<i>Microséroréaction</i> . Application de la — au dosage des virus des plantes.	251
<i>Milieux de culture</i> . Appareillage et technique d'enregistrement et de régulation automatique du pH et de potentiel d'oxydo-réduc- tion dans les — —.	337
<i>Mosaïque du Tabac</i> . Epidémiologie statistique.	485
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Croissance du — — en culture homogène.	458
<i>Oxygène</i> . Action de l'— sur les anaérobies stricts.	216
<i>Oxyméthylptérimines</i> . Voir <i>Acide p-aminobenzoyl-glutamique</i> .	
<i>Paratuberculose</i> . Voir <i>Bacilles paratuberculeux</i> .	
<i>Pénicillinase</i> . Conditions de production. Etude de l'activité.	12
<i>Pénicilline</i> . Action anti-pénicilline du nucléinate de soude et com- paraison de sa vitesse d'action avec celles des anti-sulfamides et anti-pénicillines connus.	75
— Dosage simple et rapide de la — et de la streptomycine dans les solutions, les émulsions et les pommades.	142
— Mode d'action de la — sur une bactérie : <i>Clostridium sporo-</i> <i>genes</i>	368
— Obtention d'un <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la —.	451
— Sensibilité du bacille de Schmorl à la —.	253
— Titrage de la pénicillinase.	66
<i>Précipitines antiprotéidiques</i> . Etudes des — —.	519
<i>Protéines</i> . Voir <i>Savons</i> .	
— Biréfringence d'écoulement d'une protéine combinée à du cuivre puis débarrassée de ce métal par dialyse en présence de cyanure.	341
— Gélification des —.	300
<i>Rage</i> . A propos du traitement antirabique après morsure de loup.	153

<i>Rage</i> . L'addition de latex d' <i>Hevea brasiliensis</i> au vaccin antirabique formolé en vue d'augmenter son activité.	53
Réaction de <i>Stickland</i>	323
<i>Rubidium</i> . Présence et dosage du — dans les terres arables.	124
Salive. Modification du pouvoir pathogène de la toxine diphtérique par la —.	401
<i>Salmonella</i> . Action d'un antigène typhique purifié sur le système circulatoire périphérique du lapin.	136
— Un cas d'infection à — thompson.	133
— Enquête épidémiologique comportant plus de 300 coprocultures dans la région de l'Ouest.	69
Savons. Action des — à cation actif sur les protéines. Précipitation de la sérumalbumine par un cation gras.	196
— Précipitation des protéines du sérum par un cation gras.	203
Séro-agglutination de Hollande chez 61 lépreux de la Guadeloupe.	510
Sérologie des <i>Salmonella</i>	478
Sérumalbumine. Voir Savons.	
Sérum antipesteux. Etude du — — de cheval.	516
Sérum de lapin. Etudes des anticorps anti-rickettsiæ du — —.	518
Sérums antiphages. Emploi des lysats bactériophagiques obtenus en milieu nutritif pauvre, pour la préparation des — —.	85
Silico-gel. Préparation du — incliné en tubes.	426
Singe cynocéphale. Transmission de la verrue commune au —.	246
Singes. Certains — peuvent-ils faire une encéphalite post-vaccinale ?	508
Sol. Microbiologie du —. Pouvoir ammonifiant des sables de la Camargue.	62
<i>Spherophoraceae</i> . Etude de deux — : <i>Sph. pseudonecrophorus</i> et <i>Fusiformis nucleatus</i>	258
<i>Spherophorus funduliformis</i> . Etude cytologique des sphéroïdes de — —.	334
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la pénicilline.	451
<i>Stickland</i> . Réaction de —.	323
<i>Streptomycine</i> . Action de la — sur l'infection tuberculeuse en cultures de tissus.	1
— Présentation d'ouvrage.	417
— Voir Pénicilline.	
Sulfamides. Voir Pénicilline.	
Systématique bactérienne. Classification des <i>Cytophaga</i>	394
Tabac. Mosaïque du —. Epidémiologie statistique. Progression de la maladie.	485
Tartrate d'ergotamine. Action du — — sur le virus herpétique.	520
Terres arables. Présence et dosage du rubidium dans les — —.	124
Toxine diphtérique. Modification du pouvoir pathogène de la — — par la salive.	401

<i>Tuberculose</i> . Action de la Streptomycine sur l'infection tuberculeuse en cultures de tissus.	1
— A propos de l'article de F. Tison : Nouveau procédé d'inoculation au cobaye des produits suspects de tuberculose après modification par contact avec la pénicilline calcique.	80
— Influence de la surinfection banale sur la — expérimentale du cobaye.	512
<i>Tularémie</i> . Morphologie et dimensions de l'agent étiologique de la — observé au microscope électronique.	412
<i>Ultrafiltration</i> . Voir <i>Leucopénie des Chats</i> .	
<i>Ultravirus</i> isolé dans un foyer d'ictère épidémique sévissant en Oubangui.	507
<i>Venin de Serpent</i> . Action du venin de <i>Naja tripudians</i> , de <i>Vipera aspis</i> et de <i>Vipera russellii</i> sur le cytoplasme des bactéries. . . .	339
<i>Verrue commune</i> . Transmission de la — — au singe cynocéphale (<i>Papio papio</i>).	246
<i>Virus herpétique</i> . Action du tartrate d'ergotamine sur le — —. . . .	520
— de la <i>lymphogranulomatose</i> . Structure du — — inguinale examiné au microscope électronique.	421
<i>Virus des plantes</i> . Application de la microséroréaction au dosage des — —.	251
<i>Virus vaccinal</i> . Surinfection expérimentale de suspensions pures de — — : Action élective du borate de phényl-mercure sur les bactéries saprophytes.	99

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 74

Notices nécrologiques.

+ Albert BERTHELOT (1881-1947).	81
+ Yervante MANOUELIAN (1872-1948).	504

ANDRÉ (P.). — Voir RAYNAUD (M.).

ANDREJEW (A.). — L'utilisation par oxydation de quelques substances azotées par le bacille de Koch. 464

ARNOULT (H.). — Voir PELLISSIER (A.).

ATHANASIU (P.). — Sur une méthode rapide d'obtention des corps élémentaires à l'état pur. 418

-- Transmission de la verrue commune au singe cynocéphale (Papio papio). 246

-- Voir WIRTH (J.).

BAILLY (J.). — Voir REMLINGER (P.).

BARBU (E.) et MACHEBOEUF (M.). — Recherches sur la gélification des protéines. — II. Action de la température sur la gélification par les bases et les acides minéraux forts. . . . 300

BARSKI (G.). — Action de la streptomycine sur l'infection tuberculeuse en cultures de tissus. 1

BARSKI (G.) et MAURIN (J.). — Culture sur membranes plastiques en milieu liquide de différents tissus (tissu nerveux et mésenchymateux). 312

BENAZET (F.). — Voir SOHIER (R.).

BERGER (Henriette) et MACHEBOEUF (M.). — Etude sur la fixation du cuivre par les hématies. 248

BERTRAND (Didier). — Voir BERTRAND (Gabriel).

BERTRAND (Gabriel) et BERTRAND (Didier). — Sur la présence et le dosage du rubidium dans les terres arables. 124

-- et SILBERSTEIN (L.). — Méthode améliorée de recherche et de dosage de petites quantités de méthanol. 233

BOQUET (P.), DELAUNAY (A.), LEBOULT (J.) et LEBRUN (J.). — Action d'un antigène typhique purifié sur le système circulatoire périphérique du lapin. 136

- BOQUET (P.) et LEHOULT (Y.). — Action du venin de *Naja tripudians*, de *Vipera aspis* et de *Vipera russellii* (Daboïa) sur le cytoplasme des bactéries. 339
- BOUFFANAIS (A.). — Voir VELU (H.).
- BOUVIER (G.). — Voir HAUDUROY (P.).
- BOYER (F.). — Voir GRUMBACH (F.).
- BUTTIAUX (R.) et KESTELOOT (A.). — Sur quelques propriétés biochimiques et antigéniques des *B. paracoli*. 429
- CERF (R.). — Voir LESSIAU (J.).
- CHALAUST (R.). — Note sur le pouvoir ammonifiant des sables de la Camargue. 62
— Rapports entre les microflores fixatrices et cellulolytiques. 242
- CHEVALLIER (A.). — Voir SANDOR (G.).
- COHEN (G.-N.). — Voir NISMAN (B.).
- COULON (M.-J.). — Voir FAURE (M.).
- CROISSANT (O.). — Voir LÉPINE (P.).
- CUZIN (J.) et SCHWARTZ (D.). — Etudes d'épidémiologie statistique de la Mosaïque du Tabac. — III. Analyse chronologique (progression de la maladie). 485
- DEINSE (F. van). — La lyse des cultures de bacilles tuberculeux sur pomme de terre à l'eau glycinée et la lyse des bacilles tuberculeux morts en suspension aqueuse à l'abri de l'air à 38°. 175
- DEINSE (F. van) et PETROVA (M^{lle} A.). — Technique du maintien de la faible virulence du BCG. Etude expérimentale et critique à propos de travaux danois. 171
— SOLOMIDÈS (J.) et HARITONOFF (M^{lle} M.). — Activité monocytogène des vieilles suspensions lysées de bacilles tuberculeux morts. 389
— Voir VALTIS (J.).
- DELAPORTE (M^{lle} B.) et LEMOIGNE (M.). — Cas d'infection du pain par *Bacillus megatherium* De Bary. 522
- DELAUNAY (A.). — Voir BOQUET (P.).
- DEMARCHI (J.). — Voir SOHIER (R.).
- DUCREST (P.). — Voir NICOLLE (P.).
- FAGUET (M.). — Action anti-pénicilline du nucléate de soude et comparaison de sa vitesse d'action avec celles des anti-sulfamides et anti-pénicillines connus. 75
- FAGUET (M.). — Obtention d'un *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline et étude de ses caractères 451
- FAURE (M.), LAMY (H.) et COULON (M.-J.). — Anticorps formés chez le cheval par injections intraveineuse et intradermique d'anatoxine diphtérique. 19
- GALLUT (Jean). — Sur le mécanisme de la réaction du Choléra-Roth. 27
- GAUTRON (G.). — Voir RIVIÈRE (Ch.).

- GAVARD (R.). — Voir VISCONTINI (M.).
- GIRARD (G.). — Voir GIUNTINI (J.).
- Voir SANDOR (G.).
- GIRARD (Henri) — Préparation du silico-gel incliné en tubes. . . 426
- GIROUD (P.). — Voir SANDOR (G.).
- GIUNTINI (J.) et GIRARD (G.). — Morphologie et dimensions de l'agent étiologique de la tularémie observé au microscope électronique. 412
- GRABAR (J.) et LE MINOR (L.). — Un cas d'infection à *Salmonella thompson*. 133
- GROS (F.) et MACHEROEUF (M.). — Recherches sur le métabolisme phosphoglucidique chez une bactérie anaérobie stricte : *Clostridium sporogenes*. 347
- Recherches biochimiques sur le mode d'action de la pénicilline sur une bactérie : *Clostridium sporogenes*. . . 368
- GRUMBACH (F.) et BOYER (F.). — Méthodes de titrage de la pénicillinase. 66
- , SUREAU (B.) et BOYER (F.). — La pénicillinase. Conditions de production. Etude de l'activité. 12
- GRUNBERG (M.). — Action de l'oxygène sur les anaérobies stricts. 216
- GUELIN (A.). — Etude quantitative du bactériophage de la mer. 104
- GUILLAUMIE (Maylis) et KRÉGUER (A.). — Toxine du *Clostridium chauvoei*. 189
- HARITONOFF (M^{lle} M.). — Voir DENISE (F. van).
- HAUDUROY (P.), BOUVIER (G.) et ROSSET (W.). — A propos de l'article de F. Tison : Nouveau procédé d'inoculation au cobaye des produits suspects de tuberculose après modification par contact avec la pénicilline calcique. 80
- IONESCO (Hélène). — Voir LWOFF (André).
- JACOTOT (H.). — L'addition de latex d'*Hevea brasiliensis* au vaccin antirabique formolé en vue d'augmenter son activité. . . 53
- JOSSERAND (A.). — Voir MOREL (A.).
- KAUFFMANN (F.). — A propos de la Sérologie des *Salmonella*. . . 478
- KEPES (A.). — Appareillage et technique d'enregistrement et de régulation automatique du pH et de potentiel d'oxydo-réduction dans les milieux de culture. 337
- KESTELOOT (A.). — Voir BUTTIAUX (R.).
- KOEBBER (R.) et PATOCKA (F.). — Recherches sur *Fusocillus plauti*. 254
- KOUO (C.-C.). — Voir LIEOU (Y.-Ch).
- KREGUER (A.). — Voir GUILLAUMIE (Maylis).
- LAJUDIE (P. de). — Voir RAYNAUD (M.).
- LAMENSANS (A.). — Voir SANCHEZ (G.).
- LAMY (H.). — Voir FAURE (M.).
- LEBERT (F.). — Etude d'une bactérie anaérobie nouvelle du fromage de gruyère fondu : *Clostridium aromaticum* n. sp. 256
- LEBRUN (J.). — Voir BOQUET (P.).

- LEHOULT (Y). — Voir BOQUET (P.).
- LE MINOR (L.). — Voir GRABAR (J.).
- LEMOIGNE (M.). — Voir DELAPORTE (M^{lle} B.).
- LÉPINE (P.). — Présentation d'ouvrage. 417
- LÉPINE (P.), CROISSANT (O.) et REINIE (L.). — Structure du virus de la lymphogranulomatose inguinale examiné au microscope électronique. 421
- LEVADITI (J.-C.) et REINIE (L.). — Durée de conservation du pouvoir antigène du virus de la maladie de Nicolas et Favre. 140
- et PAVILANIS (V.). — Détermination par ultrafiltration de la taille du virus de la leucopénie infectieuse des chats. . . 155
- Voir SAUTTER (V.).
- LESSIAU (J.), CERF (R.) et MACHEBOEUF (M.). — Etude de la biréfringence d'écoulement d'une protéine combinée à du cuivre puis débarrassée de ce métal par dialyse en présence de cyanure. 341
- LEVADITI (J.-C.). — Voir LÉPINE (P.).
- LIEOU (Y.-Ch.) et KOVO (C.-C.). — Premier cas chinois de maladie d'Aujeszky. 130
- LIMASSET (P.) et AUGIER de MONTGREMIER (M^{lle}). — Application de la microséroréaction de Jermoljev et Hruska au dosage des virus des plantes. 251
- LISON (L.). — Voir MUTSAARS (W.).
- LUMARET (R.). — Voir PELLISSIER (A.).
- LUTZ (A.). — La 2-méthyl-4-amino-5-amino-méthyl-pyrimidine, facteur de croissance pour les formes S et R d'une souche de bacilles paratuberculeux. 91
- LWOFF (A.) et IONESCO (Hélène). — Le potassium et la décarboxylation bactérienne oxydative des acides malique et oxaloacétique. 442
- Nécessité de l'ion Mg pour la décarboxylation oxydative de l'acide malique et la croissance de la bactérie *Moraxella lwoffii*. 433
- MACHEBOEUF (M.). — Voir BARBU (E.).
- Voir BERGER (Henriette).
- Voir GROS (F.).
- Voir LESSIAU (J.).
- Voir POLONOVSKI (J.).
- MARCENAC (F.). — Action du tartrate d'ergotamine sur le virus herpétique. 520
- MAUPIN (B.). — Résultats d'une enquête épidémiologique comportant plus de 300 coprocultures dans la région de l'Ouest. . 69
- MAURIN (J.). — Voir BARSKI (G.).
- MAUZÉ (J.) et PILIN (M^{lle} E.). — La séro-agglutination de Hollande chez 61 lépreux de la Guadeloupe. 510

- MERCIER (P.), PILLET (J.) et PÉRY (L.). — Pouvoir antigénique de la coagulase staphylococcique. — I. Etude du plasma des lapins traités avec cette substance. 148
- — — — Pouvoir antigénique de la coagulase staphylococcique. — II. Etude du sérum des lapins traités avec cette substance. 150
- MILLET (J.). — Voir VISCONTINI (M.).
- MONTGREMIER (M^{lle} Augier de). — Voir LIMASSET (P.).
- MOREL (A.), JOSSEAND (A.) et VIALIER (J.). — L'alloxane a-t-elle des propriétés antiseptiques ? 514
- MUTSAERS (W.) et LISON (L.). — Recherches concernant l'alexine. — III. Action des esters sulfuriques polysaccharidiques. Effet antagoniste des colorants basiques. 40
- NICOLLE (P.) et DUCREST (P.). — Emploi des lysats bactériophagiques obtenus en milieu nutritif pauvre, pour la préparation des sérums antiphages 85
- NISMAN (B.), RAYNAUD (M.) et COHEN (G.-N.). — Etude de la réaction de Stickland (Troisième mémoire). 323
- PATOCKA (F.). — Voir KOERBER (R.).
- PAVILANIS (V.). — Formes leucocytosiques de la leucopénie des Chats. 209
- Voir LÉPINE (P.).
- PEAUD LENOËL (C.). — Dosage de l'acide formique en mélange avec d'autres acides volatils. 345
- PELLISSIER (A.) et LAMARET (R.). — Sur un ultravirus isolé dans un foyer d'ictère épidémique sévissant en Oubangui. 507
- , TRINQUIER (E.) et ARNOULT (H.). — Certains singes peuvent-ils faire une encéphalite post-vaccinale ? 508
- PÉRY (R.). — Voir MERCIER (P.).
- PETROVA (M^{lle} A.). — Voir DEINSE (F. van).
- PIÉCHAUD (M.). — Voir SOHIER (R.).
- PILIN (M^{lle} E.). — Voir MAUZÉ (J.).
- PILLET (J.). — Voir MERCIER (P.).
- POCHON (J.). — Voir TCHAN (Y.-T.).
- , TCHAN (Y.-T.) et WANG (T.-L.). — Recherches sur le cycle morphologique et l'appareil nucléaire des *Azotobacter*. 182
- POLONOVSKI (J.) et MACHEBOEUF (M.). — Action des savons à cation actif sur les protéines. — I. Précipitation de la sérum-albumine par un cation gras. 196
- — — Action des savons à cation actif sur les protéines. — II. Précipitation des protéines du sérum par un cation gras. 203
- PRÉVOT (A.-R.). — Etude des bactéries anaérobies d'Afrique Occidentale Française (Sénégal, Guinée, Côte d'Ivoire). 157
- et RAYNAUD (M.). — Etude cytologique des sphéroïdes de *Spherophorus funduliformis*. 334

- Voir TCHAN (Y.-T.).
- RAYNAUD (M.) et ANDRÉ (P.). — Application de la technique de Robinow à la coloration des spores bactériennes. 60
- , ROBIN (L.-A.) et LAJUDIE (P. de). — Etude sur *Actinobacterium abcessus* (Neschezadimenko) P. 1938. 333
- Voir NISMAN (B.).
- Voir PRÉVOT (A.-R.).
- REINIÉ (L.). — Voir LÉPINE (P.).
- REMLINGER (P.) et BAILLY (J.). — A propos du traitement antirabique après morsure de loup. 153
- RIVIÈRE (Ch.), SALOMON (L. et L.), THÉLY (M.) et GAUTRON (G.). — Etude des propriétés bactériostatiques de la clitocybine. 118
- ROBERT (D.). — Voir TABONE (J.).
- ROBIN (L.-A.). — Etude de deux *Spherophoraceae* : *Sph. pseudonecrophorus* et *Fusififormis nucleatus*. 258
- Voir RAYNAUD (M.).
- ROSSET (W.). — Voir HAUDUROY (P.).
- SALOMON (L. et L.). — Voir RIVIÈRE (G.).
- SANCHEZ (G.) et LAMENSANS (A.). — Dosage simple et rapide de la pénicilline et de la streptomycine dans les solutions, les émulsions et les pommades. 142
- SANDOR (G.). — Etudes des précipitines antiprotéidiques. 519
- GIRARD (G.) et SKROBISZ (M^{lle} C.) [avec la collaboration de CHEVALLIER (A.)]. — Etude du sérum antipesteux de cheval. 516
- GIROUD (P.) et SKROBISZ (M^{lle} C.). — Etudes des anticorps anti-rickettsiæ du sérum de lapin. 518
- SAUTTER (V.) et LÉPINE (P.). — Etude d'une cause d'erreurs dans les réactions d'hémagglutination. Rôle du cuivre. 261
- SCHAEFER (W.). — Recherches sur la croissance du *Mycobacterium tuberculosis* en culture homogène. 458
- SCHWARTZ (D.). — Voir CUZIN (J.).
- SILBERSTEIN (L.). — Voir BERTRAND (G.).
- SKROBISZ (M^{lle} C.). — Voir SANDOR (G.).
- SOHIER (R.). — Comportement différent des *Erysipelothrix* et des *Listeria* sur milieu de culture à l'esculine. 57
- BÉNAZET (F.) et PIECHAUD (M.). — Sur un germe du genre *Listeria* apparemment non pathogène. 54
- et DEMARCHI (J.). — Modification du pouvoir pathogène de la toxine diphtérique par la salive. 401
- SOLOMIDÈS (J.). — Influence de l'estérification sur le pouvoir bactériostatique des acides gras de l'huile de foie de morue. 328
- Mise en évidence dans le jaune d'œuf de facteurs de croissance pour certains microbes. 70
- Sur la solubilisation dans l'eau de certaines huiles et l'in-

- jection intraveineuse d'huile de foie de morue au lapin et à l'homme. 331
- Sur la stabilisation du pouvoir bactériostatique des savons des acides gras de l'huile de foie de morue et sur leur mode d'action. 72
- Voir DEINSE (F. van).
- SUREAU (B.). — Voir GRUMBACH (F.).
- TABONE (J.) et ROBERT (D.). — Séparation de deux isomères biologiques de l'acide amino-benzoïque (ortho- et para-) au moyen de la chromatographie sur papier. 146
- TCHAN (Y.-T.). — Voir POCHON (J.).
- Voir WANG (T. L.).
- POCHON (J.) et PRÉVOT (A.-R.). — Etudes de systématique bactérienne. — VIII. Essai de classification des *Cytophaga*. 394
- THÉLY (M.). — Voir SALOMON (L. et L.).
- TISON (F.). — Homogénéisation des crachats et centrifugation du bacille de Koch vivant en vue de l'inoculation au cobaye. 128
- Influence de la surinfection banale sur la tuberculose expérimentale du cobaye. 512
- TRINQUIER (E.). — Voir PELLISSIER (A.).
- VALTIS (J.), DEINSE (F. van) et SOLOMIDÈS (J.). — Essais de culture du bacille de Koch dans le milieu de Dubos. 134
- VELU (H.) et BOUFFANAIS (A.). — Sensibilité du bacille de Schmorl à la pénicilline. 253
- VIALIER (J.). — Voir MOREL (A.).
- VISCONTINI (M.), GAVARD (R.) et MILLET (J.). — Action de l'acide p-aminobenzoylglutamique et des oxyméthylptérines sur *Lactobacillus casei*. 113
- WANG (T. L.). — Voir POCHON (J.).
- et TCHAN (Y. T.). — Recherches sur les benzotoases des *Azotobacter*. — I. Influence des facteurs physiques. 423
- WIRTH (J.) et ATHANASIU (P.). — Surinfection expérimentale de suspensions pures de virus vaccinal : Action élective du borate de phényl-mercure sur les bactéries saprophytes. 99

Le Gérant : G. MASSON.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

